

2º. SIMPOSIO TECNICO SOBRE INCUBAÇÃO

A N A I S

**10 e 11 de setembro de 1998
- Concórdia, SC -**

Embrapa

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente: Fernando Henrique Cardoso

Ministro da Agricultura e do Abastecimento: Francisco Turra

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA

Presidente: Alberto Duque Portugal

*Diretores: Dante Daniel Giacomelli Scolari
Elza Ângela Battaggia Brito da Cunha
José Roberto Rodrigues Peres*

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SUÍNOS E AVES - CNPSA

*Chefe Geral: Dirceu João Duarte Talamini
Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento de Suínos:
Paulo Roberto Souza da Silveira
Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento de Aves:
Gilberto Silber Schmidt
Chefe Adjunto de Apoio Técnico e Administrativo:
Ademir Francisco Giroto*

2º. SIMPOSIO TECNICO SOBRE INCUBAÇÃO

A N A I S

**10 e 11 de setembro de 1998
- Concórdia, SC -**



Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 54

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Suínos e Aves
Br 153 - Km 110 - Vila Tamandua
Caixa Postal 21
89.700-000 - Concórdia - SC

Telefone: (049) 4428555
Fax: (049) 4428559

Tiragem: 300 exemplares

Tratamento Editorial: Tânia Maria Biavatti Celant

SIMPÓSIO TÉCNICO SOBRE INCUBAÇÃO, 2., Concórdia, SC, 1998. **Anais...** Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 1998. 77p. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 54).

1. Avicultura. 2. Ovos- incubação-congresso. I. Título. II. Série.

CDD 636.51

PROMOÇÃO



Su nos e Aves



APOIO E PATROCÍNIO

- Adami S/A Madeiras
- Agroceres S/A
- Avelino Bragagnollo S/A Ind. e Com.
- Bayer S/A
- Buckeye International Ltd
- Casp S/A indústria e Comércio
- Cobb do Brasil Ltda
- Coopers Brasil Ltda
- Cumberland Hatchery Systems
- Embrex, Inc-USA
- Fort Dodge Saúde Animal Ltda
- IGI do Brasil Ltda
- Indestel – Indústria de Embalagens Oeste Ltda
- Jamesway Incubator Company Ltd
- Merial Saúde Animal Ltda
- Polycel Ltda
- Prevent Com. Representações Importação e Exportação

COORDENAÇÃO

- Paulo Sérgio Rosa (Embrapa Suínos e Aves)

ORGANIZAÇÃO

- | | |
|---------------------------|------------------------------------|
| – Antônio Darci Wouters | (Chapecó Cia Ind. de Alimentos) |
| – Celso Mattiolo | (Avepar – ACAV) |
| – Cláudio Schell | (Sadia Concórdia S.A.) |
| – Dianir S. Formiga | (Embrapa Suínos e Aves) |
| – Fábio Luiz Bittencourt | (Sadia Concórdia S.A. Ind. e Com.) |
| – Gelson Vacaro | (Avepar) |
| – Ivonei Francisco Socha | (Perdigão Agroindustrial S.A.) |
| – Jacir Albino | (Embrapa Suínos e Aves) |
| – Jaime Roque Nunnemacher | (Ceval Alimentos S.A.) |
| – Marisete Cerutti | (Ceval Alimentos S.A.) |
| – Nelva Grando | (Sadia Concórdia S.A.) |
| – Paulo S. Rosa | (Embrapa Suínos e Aves) |

COMISSÃO DE APOIO

- Cícero J. Monticelli
- Rosali S. Vanzin
- Sérgio Renan Alves
- Sandra S. Schirmann
- Tânia M.B. Celant
- Tânia M.G. Scolari
- Vania M. Faccio

SUMARIO

GERENCIAMENTO DO PROCESSO DE INCUBAÇÃO

Ivonei Francisco Socha..... 01

SANIDADE NO INCUBATÓRIO

HACCP COMO FERRAMENTA PARA CONTROLE SANITÁRIO

Nelva Grando..... 10

HATCHERY PATHOLOGY

PRINCIPAL DISEASES, CAUSES AND PREVENTIONS ENVIRONMENTAL MANAGEMENT

Robert Barnwell..... 19

DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

Marcos Macari..... 27

PROCEDIMENTOS BÁSICOS PARA REDUÇÃO DOS RISCOS DE TRANSMISSÃO DO VÍRUS DA LEUCOSE AVIÁRIA, Subgrupo J (VLA-J)

Paulo Lourenço da Silva..... 42

IN OVO TECHNOLOGY

C.J. Williams..... 56

VACUNACIÓN IN OVO

Oscar Morales 74

GERENCIAMENTO DO PROCESSO DE INCUBAÇÃO

Ivonei Francisco Socha

Perdigão Agro-industrial S/A
Rua Saul Brandalise, 39 - Videira - SC
Fone 049-5339418 - Fax 049- 5339485

O surgimento da avicultura no Brasil como indústria data-se na década de 50, porém o grande salto foi entre as décadas de 70/80, com o advento das exportações de carne de frango principalmente aos países do Oriente Médio. Sempre ouvimos dizer que a Avicultura é uma indústria, como um todo, porém nem todos os seus segmentos foram inicialmente considerados como uma atividade industrial, caso este que podemos exemplificar é a atividade de incubação, onde as Agro-industriais primeiramente efetivaram seus complexos de integração, os abatedouros, sendo suprida a necessidade de pintos com aquisição de produtores independentes. Este procedimento estava principalmente relacionado, as dificuldades na aquisição de matrizes, também pela falta de infraestrutura para os alojamentos, entre outros.

Com o passar dos tempos foi-se verificando que a atividade de incubação é de suma importância para as Agro-industriais, preconizando-se o menor custo do pinto de um dia, haja visto sua representação no custo final do frango. Com os novos conceitos de Administração, apareceram as tercerizações, porém em função de muitas linhagens não oferecerem boas produtividades das matrizes, aliado a um bom rendimento de carcaça o que inviabilizou alguns projetos. O intuito de nossa introdução, foi de lembrar o início da atividade como indústria no país e também de enfatizar o surgimento da incubação artificial como segmento lucrativo no contexto da avicultura.

Nosso trabalho dará ênfase somente às atividades gerenciais de um incubatório, ou seja, mostrar uma das formas mais práticas de administrar, porém queremos deixar claro que existem outros métodos, os quais poderão ser utilizados dependendo da necessidade de cada companhia.

Gerenciar um processo de incubação é uma tarefa que os responsáveis dos incubatórios, sempre executaram, muito embora, sempre acordando com os ensinamentos recebidos de seus colegas e ou bibliografias especializadas e principalmente de acordo com seu grau de formação. Sendo que desta forma é comum a despadronização do processo, ou seja cada um tem as suas medidas seus conceitos, desentendo da maioria das atividades da avicultura, daí a necessidade de tentarmos elaborar uma espécie de manual de fácil adaptação aos diferentes modelos de incubatórios, procurando de uma forma simples utilizar todos os instrumentos a nossa disposição e que muitas vezes passam despercebidos.

Para aqueles incubatórios em fase de planejamento de construção, bem como aos já em funcionamento, os conceitos, as ferramentas, os instrumentos, etc. poderão ser incorporados dependendo, única e exclusivamente da vontade de melhorar, daqueles que administram esta atividade.

A grande pergunta é: O que é a atividade de Incubação? Com certeza nada mais é do que uma indústria de transformação. Numa era de globalização, como estamos vivendo, certamente só sairá vencedor o empreendimento que estiver proporcionando a melhor performance, pois é imprescindível o acompanhamento dos desenvolvimentos tecnológicos, e dos novos conceitos.

Neste contexto, iniciamos propondo que a estrutura física de um incubatório, subdivide-se em:

- 1 -Modelo de incubatório.
- 2 -Modelo das incubadoras e nascedouros.
- 3 -Quadro de pessoal.

Modelo de incubatório

É comum que no planejamento de um novo incubatório, a ou as pessoas que irão gerencia-lo, pouco opinaram, quanto a elaboração do projeto, consistindo aí uma das maiores falhas, pois o profissional do meio com certeza poderia ter contribuído com seus conhecimentos, afim de melhores resultados futuros. Existem muitas empresas fornecedoras de equipamentos que atualmente desenvolvem projetos de novos incubatórios, sempre atendendo a necessidade de cada empresa, pois temos incubatórios para linhas puras, avós, pintos de corte, aves exóticas etc. que normalmente precisam de particularidades diferenciadas, obedecendo sempre a característica de cada ave. Além destas medidas também temos que tomar a decisão de, com quantos nascimentos iremos operar, pois após a conclusão do projeto será muito difícil ou muito custosa a mudança. Outra decisão importante a ser tomada é o nível de automação a ser projetado ou necessário ao tipo de incubação a ser efetivada. É indispensável, em um novo projeto os estudos preliminares de:

- 1-a- Dados meteorológicos
- 1-b- Topografia da região
- 1-c- Disponibilidade de matéria-prima para construção
- 1-d- Distância do matrizeiro fornecedor dos ovos
- 1-e- Distância dos criadores de pintos
- 1-f- Disponibilidade de mão-de-obra
- 1-g- Qualidade da mão-de-obra
- 1-h- Disponibilidade de transporte, bem como condições de tráfego

Certamente a partir do momento que tivermos conhecimento dos itens acima, teremos maior facilidade em idealizar uma obra top de linha, objetivando a melhor competitividade possível, enquadrando-se com as características da região e suas peculiaridades. Estes dados também poderão contribuir em muito na minimização do custo da obra.

Modelo das incubadoras e nascedouros

Após a decisão do modelo de incubatório a ser construído, fica mais fácil a tomada de decisão na escolha do modelo dos equipamentos, porém tem-se como regra básica que a garantia do fornecedor quanto a sua performance seja clara e objetiva, evitando-se as surpresas futuras. Sempre que possível testar estes equipamentos, antes de adquiri-los no escuro, ou então solicitar ao fornecedor um acompanhamento em outra unidade, com o aval de seus técnicos que irão gerenciar este novo projeto. É do conhecimento de todos, os modelos de incubadoras e nascedouros; são incubadoras de carros, de prateleiras, túnel entre outras, quanto as capacidades de incubação também são muito variadas e aí que entra a complexidade de um projeto, pois muitas vezes a escolha relaciona-se simplesmente com a área a ser construída ou a potência instalada, as quais não deixam de ser importantes, porém devemos buscar sempre a minimização destes fatores, mas com a preservação da necessidade de cada projeto, obedecendo-se as características inerentes a linhagem a ser incubada bem como o tipo de pintos a ser produzido. O que queremos dizer é que cada modelo de incubadoras e nascedouros tem suas vantagens e desvantagens, aí a necessidade de uma análise profunda, visando o atendimento básico da companhia, com os menores custos possíveis e logicamente com a melhor qualidade.

Quadro de pessoal

Aqui nos deparamos com duas situações, sendo:

1 -Em novos projetos, é fundamental a montagem de uma equipe com conhecimento básico, ou seja é importante, que um pequeno percentual em cada segmento do incubatório tenha conhecimentos básicos da atividade e principalmente que a gerência conheça a fundo o processo ou então estar amparada por uma boa assessoria em tempo integral até o treinamento básico da equipe, inclusive com o acompanhamento dos técnicos da empresa fornecedora dos equipamentos. É comum empresários formando equipes com novos profissionais, evitando os “profissionais viciados”, porém acreditamos ser mais importante contabilizar os custos de uma novidade com produção plena.

2 -Nos projetos já concluídos, se houver necessidade é possível efetuar-se uma reestruturação, obedecendo-se sempre os parâmetros mínimos de produtividade. Para cada incubatório a estrutura poderá ser modificada, obedecendo as necessidades básicas daquela produção, porém não podemos fugir de certos padrões, que nos oferecem condições plenas de competitividade, pois a evolução tecnológica os novos conceitos devem estar sempre em condições de aplicação, portanto quando temos a consciência que é possível mudar temos que estar abertos a estas possibilidades; sugerimos então uma estrutura básica de um incubatório:

Este organograma visa de modo geral e bastante simples demonstrar as atividades macro de um incubatório, sabendo-se que estas certamente estarão divididas em “n” tarefas, de acordo com a necessidade de cada incubatório, como pôr exemplo:

Recepção e Armazenagem

- Receber os ovos
- Controlar a desinfecção dos ovos
- Efetuar a classificação, quando esta existir
- Controlar as condições de armazenagem
- Controlar o estoque
- Manter os padrões de bio-segurança
- Programar os carregamentos, de acordo com as necessidades de alojamento
- Controlar os pré-aquecimentos, quando houver

Incubação

- Efetuar o carregamento da incubadoras
- Manter os padrões de bio-segurança da sala, bem como das incubadoras
- Controlar temperatura, umidade, ventilação e viragem das incubadoras
- Efetuar a transferência dos ovos para os nascedouros
- Manter os padrões de bio-segurança da sala, bem como dos nascedouros
- Controlar a temperatura, umidade e ventilação dos nascedouros e sala

Produção

- Coleta dos pintos
- Sexagem, quando houver
- Seleção dos pintos
- Vacinações
- Organização pôr ordem de entrega
- Lavação dos equipamentos de nascimento, materiais de transporte de pintos e salas
- Expedição dos pintos
- Manter os padrões de bio-segurança dos equipamentos de vacina, das salas de nascimento, dos nascedouros e seus componentes e das salas de pintos e lavação

Administração

- Controle de toda a parte burocrática da área técnica, como controle do recebimento de ovos, controle de carregamento, mapas de leituras, entre outros
- Controle das áreas contábil e fiscal
- Emissão de notas fiscais
- Controle de estoque de almoxarifado, entradas e saídas de mercadorias
- Controle de cartão ponto, admissões e programas de trabalho
- Controle de manutenção
- Controle de serviços gerais

Gerência

Propositadamente deixamos a descrição da gerência, em último plano a fim de darmos a ênfase necessária, pois temos observado ao longo dos anos que estamos nesta atividade, que, existem muitas estruturas diferenciadas nos mais diferentes modelos de incubatórios, e na maioria das vezes confundem-se os cargos de gerente do incubatório com o técnico de incubação deste. Logicamente o volume de produção de um incubatório é quem vai ditar a forma de sua estrutura, mas a não observância de um sistema organizacional pré-fixado, gera uma série de atravessamentos, descontentamentos e até mesmo a desistência de muitos profissionais.

Portanto, queremos colocar que o gerente do incubatório não necessariamente deve ser o incubador ou o técnico de incubação, pois gerenciar um incubatório é ver o processo de um angulo macro, ou seja, é conciliar, é organizar, é buscar a produtividade, enfim é o responsável pela melhoria do processo como um todo. Já o técnico de incubação ou o incubador é a pessoa que vai entrar nos mínimos detalhes, para tirar da matéria prima disponível, ou seja "do ovo" a maior quantidade de pintos, com a melhor qualidade possível, pois é com este trabalho que se chegará ao sucesso no final do processo, que nada mais é do que a qualidade do frango, no abatedouro. Também é importante salientar que o gerente do incubatório é o elo de ligação entre as áreas, não só internas como externas, ou seja, é o contato com as granjas fornecedoras dos ovos, com os clientes e ou integrados, com os fornecedores dos equipamentos, vacinas, desinfetantes, laboratórios, etc.

Temos observado que a formação dos gerentes dos incubatórios são as mais variadas possíveis, conseqüentemente o mesmo acontece com os incubadores ou técnicos de incubação. Com isso queremos enfatizar a falta de profissionais com formação adequada para a atividade, ou seja, é importante que as Universidades, Colégios Agro-técnicos, ofereçam cursos e ou graduações inerentes a nossa atividade, possibilitando assim um melhor desenvolvimento a estes profissionais.

O gerente de um processo de incubação, atento aos novos conceitos, as novas tecnologia e empenhado em ser competitivo num mercado globalizado, além das técnicas de controle dos custos, da busca incessante de melhor eclosão e qualidade dos pintos, pôr eles produzido, tem como a principal tarefa o controle de produtividade, ou da otimização da mão de obra, pois na composição dos custos do pinto de um dia, temos observado custos com mão de obra, variando de 6,8 até 17% embutidos no custo final do pinto. Frente a esta situação, colocamos aos Srs. uma amostra de medição de produtividade, nos diversos setores de um incubatório, porém é importante que fique claro que esta não é a única forma de medir produtividade, mas sim uma delas entre tantas, que logicamente cada empresa sempre tem suas peculiaridades.

Recepção e Armazenagem

O meio mais eficiente de se otimizar mão de obra neste setor, o qual esta sendo adotado por muitas companhias, é a classificação e embandejamento dos ovos, nos carros de incubação na granja, pois na maioria das vezes as granjas fazem um repasse ou pré-classificação, logo após a coleta dos ovos, o qual pode facilmente ser adaptado a uma classificação propriamente dita, aproveitando-se a mão de obra disponível da própria granja. Para efetivar-se esta pratica, é fundamental possuir carros e bandejas de incubação suficientes, certamente bem mais da quantia necessária, em relação a classificação feita no incubatório, pois neste caso a classificação será feita dependendo da necessidade de incubação, também deverá haver transporte especializado, para carros de ovos, com equipamento de automação de carga e descarga, ou então rampas nas casas de ovos das granjas e no incubatório, visando facilitar o processo. Viabiliza-se ainda mais este processo se granja possuir ninhos automáticos, onde os ovos serão coletados via uma esteira e embandejados a seguir, inclusive em alguns casos com sistemas de desinfecção no segmento do processo.

Na impossibilidade da classificação dos ovos ser feita na granja, e partindo-se da premissa que os ovos são enviados das granjas já selecionados ou classificados, poderemos utilizar equipamentos de embandejamento, com sistema de vácuo, disponíveis no mercado, os quais reduzem mão de obra, na proporção de até 75% em relação a classificação manual.

Caso não possam ser utilizadas nenhuma das práticas citadas anteriormente, nos resta a classificação manual a qual poderá ser medida, considerando-se o número de ovos classificados pôr pessoa hora, onde temos observado valores em torno de 2.000 a 4.500 ovos pôr pessoa pôr hora, como uma boa performance, logicamente estes valores também dependem em muito da qualidade de mão de obra disponível.

Além das práticas aqui citadas existem companhias que utilizam a classificação de ovos pôr peso, ai teremos outros valores a serem medidos, pois dependerá em muito da capacidade de cada equipamento.

Incubação

Em qualquer tipo de atividade sempre existe um setor com maior destaque, e como não poderia deixar de ser, no incubatório, o setor de incubação, normalmente é considerado o “coração” da atividade. É uma das atividades mais importantes, senão a mais importante de um incubatório.

Na área de incubação as decisões obrigatoriamente tem que ser tomadas em tempo e no momento certo, pois de um bom planejamento, e de decisões tomadas corretamente é que obteremos uma melhor performance e de melhor qualidade possível e aí é que esta a grande responsabilidade desta atividade dentro de um incubatório, pois pouco adianta termos um bom projeto, uma matéria prima de qualidade, se não tivermos uma equipe preparada e consciente para o atingimento do objetivo principal que nada mais é do que a produção de pintos, atendendo a capacidade produtiva da linhagem bem como da melhor qualidade possível.

Dentro do nosso organograma mostramos que o incubador esta ao lado do gerência do incubatório, então aí esta a função da produção dos pintos, da qualidade destes, ou seja é o responsável pelo planejamento da incubação, através do programa de alojamento, também é o profissional responsável pela análise técnica da incubação, através dos exames de embrio-diagnóstico ou exame de resíduos, dos controles sanitários, dos controles de temperatura, umidade relativa, ventilação entre outros, aí que diferenciamos o gerente do incubatório, do incubador ou técnico de incubação, pois como citamos anteriormente, muitas vezes é a mesma pessoa que responde pelas duas áreas e normalmente acontecem os atravessamentos, ou seja, a área administrativa está acima da área técnica e decisões importantes passam despercebidas, prejudicando os nascimentos e até a qualidade dos pintos, ou então os problemas administrativos é passam despercebidos, e em ambos os casos a companhia é quem pagará o prejuízo, o qual não precisaria ter acontecido, pois ao montar a estrutura poderia se ter corrigido este problema.

A equipe da área de incubação, depende muito do modelo dos equipamentos de incubação, dos modelos de automação nos controles destes equipamentos, bem como do tipo de pintos a serem produzidos, portanto é difícil precisar o número de pessoas para esta área, porém queremos adiantar que esta equipe dificilmente representa mais que 20% do total de um incubatório.

Produção

Normalmente na maioria dos incubatórios é nesta área que encontramos o maior volume de mão de obra, pois no Brasil temos muito pouca automação, conseqüentemente as atividades são manuais obrigando a um contingente maior para atender as necessidades de cada companhia. Conforme descrevemos anteriormente as atividades são bastante distintas, em se tratando de incubatórios que fazem sexagem, vacinação e seleção, certamente podemos afirmar que 60% ou mais da mão de obra de um incubatório, aí está alocada. A busca de melhores produtividades nesta área dependem em muito de automações, como:

- equipamentos de coleta dos pintos automáticos
- equipamentos de distribuição para sexagem e vacinação automáticos
- lavadoras de bandejas de eclosão e caixas de pintos automáticas
- equipamentos para vacinação de ovos
- treinamento das equipes quanto a seleção, vacinação e sexagem

Dependendo do volume de produção de um incubatório, bem como da decisão da companhia em fazer ou não as automações, também podemos melhorar a produtividade no setor de produção, treinando e concientizando as equipes, no sentido de melhorar a performance, ou seja: cada profissional deverá ter consciência de seu potencial, seja ele selecionador, sexador ou vacinador, pois desta forma todos estarão participando do processo.

Em se tratando destas atividades serem feitas manualmente podemos citar que as produtividades a serem alcançadas serão em média:

Sexagem - aproximadamente 3.500 pintos pôr hora pôr pessoa

Seleção - dependerá do tipo de pinto a ser produzido

Vacinação- esta pôr sua vez terá a mesma produtividade da sexagem, porém deve-se lembrar que cada tipo de máquina de vacina tem sua capacidade nominal, a qual não poderá ser superada correndo-se o risco de uma dosagem a quem da necessária.

Administração

Neste setor encontramos a área de apoio do incubatório, ou seja é nela que se controlam todas as entradas e saídas de mercadorias, toda a parte burocrática tanto da área técnica bem como das áreas fiscais, contábil, financeira e de recursos humanos. Normalmente é a área que controla as manutenções preventivas e corretivas de todos os equipamentos operados pelas áreas técnicas, também é função da manutenção o controle de consumo de energia elétrica, manutenção externa e tratamento de efluentes.

Controle de Produtividade

Finalmente queremos mostrar uma forma simples de controlar a produtividade em um incubatório, sendo esta a principal tarefa de um gerente, pois é desta forma que os custos serão minimizados, ou seja: a composição de custos de um pinto basicamente incorporam, matéria prima e os custos de formação, como energia elétrica, vacinas, desinfetantes, transportes, contribuições fiscais, entre outros e a mão de obra.

Se observarmos atentamente veremos que, o gerente tem pouca ação no controle dos custos de matéria prima, bem como dos custos de formação, pois dependem da granja produtora dos ovos, do modelo dos equipamentos instalados, do tipo de vacina e desinfetante necessário, da distância dos

matrizeiros e recebedores dos pintos etc. logicamente sempre teremos ações a tomar, mas com baixos índices de redução nos custos, porém é na mão de obra que o gerente terá a maior ação. Este controle dependerá em muito do nível de automação de cada unidade, sendo que quanto maior a automação logicamente será menor o número de funcionários necessários.

Ainda no Brasil são poucas as empresas que investiram em automação dos incubatórios, então colocamos a seguir um quadro de boa produtividade, para incubatórios sem nenhum tipo de automação. Optamos pôr medir a produtividade em semanas de incubação, pois a medida torna-se mais exata, sabendo-se que temos uma capacidade semanal de incubação, já a capacidade mensal dependerá do número de dias úteis e também ainda existem muitas unidades com quantidades diferenciadas de incubação nos dias da semana, também é importante salientar que nosso modelo de medição de produtividade é baseado em seis dias de nascimentos, pois uma unidade sem automação e operando com quatro nascimentos obrigatoriamente terá que ter um maior número de funcionários.

“Nosso modelo baseia-se, na divisão do número de ovos incubados na semana pelo número de funcionários existentes, e terá como resultado o número de ovos incubados por funcionário por semana”

Incubatórios com incubadoras do tipo ou modelo de prateleiras, com classificação dos ovos na granja, considera-se um bom número **“22.500 ovos incubados pôr funcionário pôr semana”**

Incubatórios com incubadoras do tipo ou modelo de carros ou túnel, com classificação dos ovos na granja, considera-se um bom número **“24.000 ovos incubados pôr funcionário pôr semana”**

Para os incubatórios com a classificação dos ovos, deverão ser incluídos os valores anteriormente citados, e também como já dissemos anteriormente a cada adição de automação os números de produtividade serão aumentados, de acordo com o modelo desta.

Acreditamos ter colaborado com os Srs. na busca de melhorias quanto a produtividade em um incubatório, procuramos em nenhum momento enfatizar novos programas, evitamos entrar no mérito das técnicas de incubação, nos temas de qualidade total, reengenharia, gestão participativa entre outros, mas sim procuramos clarear ainda mais o nosso dia a dia, pois as pessoas que querem as melhorias, buscam sempre através das mudanças, bem como as discutem, mas sabem da importância destas num conceito gerencial inovador pois assim escreve-se a história de um vencedor.

SANIDADE NO INCUBATORIO HACCP COMO FERRAMENTA PARA CONTROLE SANITÁRIO

Nelva Grando

Médica Veterinária
Sadia S.A. – Chapecó

1) Histórico

Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP), iniciou em 1959 na Pillsbury, empresa que produzia alimento para a NASA, nos quais existiam dois problemas sérios em relação a segurança dos alimentos.

O primeiro deles relacionava-se com o perigo potencial das partículas dos alimentos sob condições de gravidade zero. Para a resolução deste problema, o objetivo era a produção de alimentos em porções individuais, de tamanho adequado para serem colocados de uma só vez na boca, formulado de modo a manter as partículas coesas e embalados de modo a minimizar a exposição do alimento ao ambiente durante a estocagem, preparação e consumo.

Deste modo problemas com a interferência de pequenas partículas do alimento, em gravidade zero na parte elétrica dos equipamentos da aeronave estariam resolvidos.

O segundo problema de segurança relacionava-se com a possibilidade de os astronautas ficarem doentes no espaço. Dentre as possíveis doenças estavam relacionadas as fontes alimentares.

Enquanto que na época conheciam-se bem os microorganismos patogênicos importantes em alimentos, os métodos de controle das indústrias não eram adequadamente organizados a ponto de inspirar confiança na aquisição de alimentos para o uso em missões espaciais.

A amostragem do produto final para estabelecer a segurança microbiológica de cada lote de alimento espacial provou ser impraticável. Os planos de amostragem por atributos em testes destrutivos no produto final, mostraram-se ineficazes para garantir a segurança microbiológica do produto.

De fato, se a **Salmonella** estivesse presente num lote do produto com taxas de defeituosos de 0,1% (uma unidade em 1000 apresentaria o defeito), um plano de amostragem com análise de 60 unidades deste lote, teria 94% de probabilidade de aprovar o lote. Deste modo um lote que deveria apresentar ausência de **Salmonella**, seria aceito 94% das vezes que fosse examinado.

Em adição as evidências estatísticas que os planos de amostragem usuais seriam ineficazes na detecção de um lote contaminado, restava também a impraticabilidade econômica, pois nenhuma companhia poderia assumir os custos de uma análise destrutiva de 60 unidades do produto por lote produzido.

O Dr. Howard Baumann que gerenciava projetos de alimentos espaciais conclui, após extensa avaliação, que o único meio de se conseguir sucesso seria estabelecer o controle sobre todo o processo, a matéria-prima, o ambiente e pessoal envolvido na produção de alimentos.

Foi então que pesquisadores adaptaram a produção de alimentos o “Sistema Modo de Falhas”, desenvolvido pelos Laboratórios das Forças Armadas dos Estados Unidos. Este sistema consiste no exame do produto e todos os seus componentes e processos utilizados na sua confecção, buscando e questionando sobre a possibilidade da ocorrência de falhas no sistema e procurando medidas para prevenir falhas potenciais. O conhecimento do produto e do processo permite prever o que poderá acontecer de errado (um perigo), como poderá acontecer algo errado e onde ocorrerá algo errado durante o processo.

Com base neste tipo de análise de perigos, associado com um produto e um processo específico, era possível selecionar pontos nos quais se efetuassem medidas e observações que demonstrariam que o processo estava sendo controlado. Se o processo estivesse fora de controle, existiria um aumento na probabilidade de ocorrer um problema com inocuidade do alimento. Estes pontos no processo foram e ainda são chamados de Pontos Críticos de Controle (PCC), e o sistema ficou conhecido como Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle.

2) Definições

Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

É um método simples, mas altamente especializado para a identificação e controle de perigos potenciais. É uma técnica de gestão da qualidade que requer o exame sistemático de todas as etapas necessárias à criação e reprodução de aves, desde a obtenção das matérias-primas e insumos, durante as etapas do processo até o abate. É um sistema que identifica perigos específicos e medidas preventivas para seu controle, para assegurar a sanidade do plantel e a qualidade microbiológica da carcaça.

Perigos

Perigos são quaisquer contaminações inaceitáveis pelas boas práticas de produção, distribuição e uso. Também é definido como o potencial para causar danos.

O potencial para causar danos está relacionado aos danos ao consumidor e danos aos plantéis. No primeiro caso, os danos afetam a segurança e inocuidade do alimento, prejudicando a saúde do consumidor. No segundo caso, o dano afeta a criação, sendo evidenciado por perdas econômicas.

Pontos Críticos de Controle (PCC)

É um local, uma prática, um procedimento ou um processo no qual deve-se exercer controle sobre um ou mais fatores, os quais, se corretamente controlados poderão eliminar, prevenir ou reduzir um perigo a nível aceitável. É um local ou um processo que se não for efetivamente controlado, pode causar uma contaminação do plantel a níveis inaceitáveis. É qualquer ponto, procedimento ou operação específica, onde a falha no controle pode se traduzir num risco à saúde do plantel e do consumidor.

3) Princípios

A filosofia do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP) é a de prevenir os riscos à segurança do produto. O propósito do sistema de HACCP é o de assegurar a inocuidade do produto através do desenvolvimento, implementação e gerenciamento efetivo de um programa funcional de processos orientados no controle de perigos.

O sistema de HACCP é baseado nos seguintes 7 princípios:

PRINCÍPIO Nº 01: Identificar os perigos potenciais e suas medidas preventivas.

PRINCÍPIO Nº 02: Identificar os pontos críticos de controle.

PRINCÍPIO Nº 03: Definir os limites críticos para as medidas preventivas.

PRINCÍPIO Nº 04: Definir os procedimentos de monitoração dos PCCs.

PRINCÍPIO Nº 05: Definir as medidas corretivas.

PRINCÍPIO Nº 06: Estabelecer procedimentos efetivos de registros e documentação.

PRINCÍPIO Nº 07: Estabelecer procedimentos de verificação de que o sistema está funcionando.

PRINCÍPIO Nº 01

Análise e Identificação de Perigos

O primeiro passo na aplicação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle é a análise detalhada dos perigos específicos relacionados com a produção sejam estes perigos de natureza microbiológica, física ou química.

Isto inclui a análises das matérias-primas, equipamentos utilizados no processo, práticas operacionais.

Tal análise é melhor efetuada usando-se um procedimento estruturado de análise de perigos de modo a que todos os perigos potenciais possam ser considerados.

Seu propósito é **identificar perigos reais e potenciais associados ao processo.**

A análise de perigos exige “expertise” técnica para identificar corretamente todos os perigos, **estabelecer sua severidade e prever acuradamente seus riscos.**

Predições incorretas não fornecerão a segurança desejada e podem frequentemente aumentar os custos. São necessárias informações sobre as **práticas verdadeiras para estabelecer os perigos e riscos associados para identificar operações onde o controle é essencial para assegurar a segurança.**

Os perigos variam de um estabelecimento para outro, mesmo entre aqueles que produzem os mesmos tipos devido a:

- ⇒ **Diferentes fontes dos ingredientes;**
- ⇒ **Diferentes formulações;**
- ⇒ **Diferentes equipamentos utilizados no processo;**
- ⇒ **Diferentes métodos de processo;**
- ⇒ **Diferentes situações na duração do processo;**
- ⇒ **Diferentes experiências, conhecimentos e atitudes individuais.**

A análise de perigos deve ser conduzida em todos os produtos e em qualquer novo produto que um processador tenha a intenção de produzir. É obrigatória a revisão do estudo de perigos quando ocorrer mudanças no uso de matérias-primas, na formulação do produto, nos procedimentos de preparo ou processo, na embalagem, distribuição e uso de um produto.

Até que um controle adequado possa ser exercido por toda a produção de alimentos, impedindo que os ingredientes sejam vetores de organismos patogênicos ou potencialmente patogênicos, uma vigilância constante deve ser mantida sobre os constituintes.

Historicamente tem sido observado que alguns ingredientes são livres ou virtualmente livres de microorganismos patogênicos ou outros perigos, enquanto que outros, principalmente os de origem animal frequentemente carregam pequenos números de organismos potencialmente patogênicos.

Medidas Preventivas

São fatores ou ações de natureza física, química ou biológica, que podem ser utilizados para o controle do perigo identificado.

As medidas preventivas podem ser medidas de temperatura, tempo, dimensões físicas, umidade, atividade água, pH, terapêuticos e químicos. Sempre que possível, desenvolver ou definir as medidas que eliminam o perigo (PCCe), que reduzem (PCCr) e as que previnem (PCCp), considerando as características de um produto para determinar se a estabilidade micro biológica pode ser melhorada durante o processo.

PRINCÍPIO Nº 02

Identificação dos Pontos Críticos de Controle

Os Pontos Críticos de Controle estão localizados em qualquer ponto onde os perigos devem ser eliminados, prevenidos ou reduzidos a níveis aceitáveis. As informações obtidas durante a análise dos perigos deverão ser suficientes para que a equipe HACCP identifique as fases que constituem em Pontos Críticos.

Deve examinar as características do produto selecionado em todas as etapas do processo, identificar os pontos onde os riscos associados aos perigos em estudo, necessitam ser previstos (PCCp), eliminados (PCCe) ou reduzidos (PCCr) a níveis aceitáveis, desde a matéria-prima e insumos até o cliente final.

O melhor procedimento para a identificação dos pontos críticos, baseia-se no uso do diagrama de identificação dos pontos críticos de controle, elaborado pela Organização Mundial da Saúde e conhecido como “Árvore Decisória de PCC”.

Considerações para o Uso da Árvore Decisória

- a) A árvore decisória é usada após a análise do perigo.
- b) A árvore decisória é usada nas fases onde um perigo significativo tenha sido identificado. Estes são perigos de ocorrência esperada. Perigos que não são importantes, isto é, baixo risco ou improvável de ocorrer, devem ser excluídos.
- c) Um processo que não tenha um perigo importante, não necessita de um plano HACCP.
- d) Cada fase que é identificada como um PCC deve concordar com a definição: um ponto, fase ou procedimento no qual um controle pode ser aplicado e um perigo possa ser prevenido, eliminado ou reduzido a níveis aceitáveis.
- e) Se num processo existir uma fase subsequente cujo controle pode ser mais eficaz para o controle de um perigo, deve ser preferido ao anterior.
- f) Mais de uma fase em um processo pode estar envolvida no controle de um perigo.
- g) Mais de um perigo pode ser controlado com uma específica medida de controle.

PRINCÍPIO Nº 03**Estabelecer Limites Críticos**

Um limite crítico é definido como um critério que deve ser atingido para cada uma das medidas preventivas associadas com cada um dos Pontos Críticos.

Os limites críticos podem ter diversas origens; podem vir de regulamentos, códigos de práticas, política da empresa, padrões, dados literatura, ou ainda, do conhecimento dos níveis alcançados pelo processo.

PRINCÍPIO Nº 04**Estabelecer Sistema de Monitoração dos Pccs**

Uma vez que as medidas de controle e os critérios estejam estabelecidos, pode-se escolher os procedimentos de monitoração adequados para os PCC.

A maioria dos procedimentos de monitoração para os PCCs necessitam ser efetuados rapidamente, porque se relacionam com o produto em processamento e não existe tempo suficiente para realização de métodos analíticos.

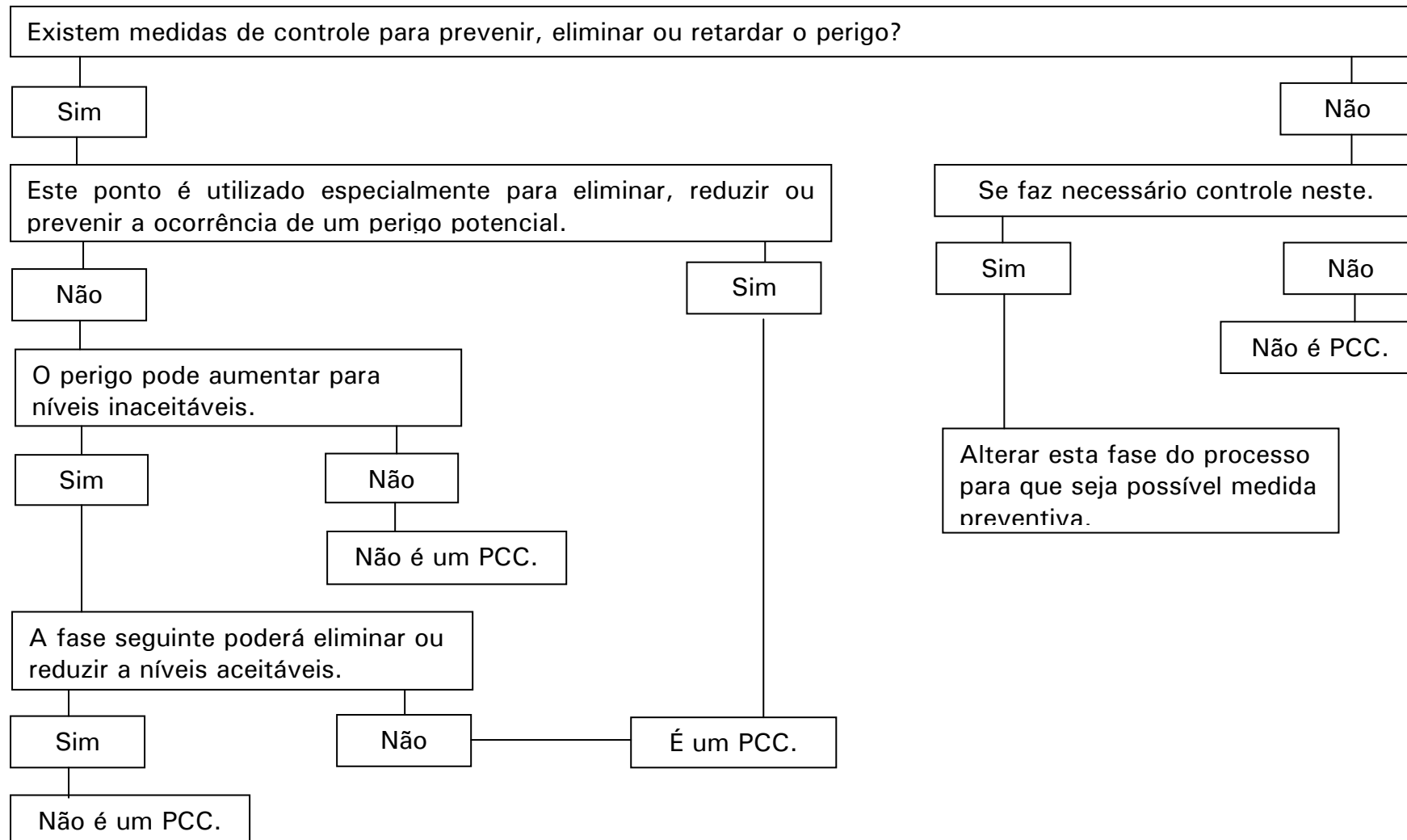
Monitoração é uma sequência planejada de observações ou mensurações para informar se um determinado PCC está sob controle e para produzir um registro fiel para uso futuro na verificação.

PRINCÍPIO Nº 05**Medidas Corretivas**

O sistema HACCP para administração da qualidade e inocuidade dos produtos foi desenvolvido para identificar perigos potenciais e para estabelecer estratégias para prevenir suas ocorrências. Entretanto, as circunstâncias ideais nem sempre prevalecem, e desvios de processo podem ocorrer.

Por causa das variações nos PCCs para diferentes produtos e processos e pela diversidade dos possíveis desvios, planos de ação específicos devem ser desenvolvidos para cada PCC.

Quando os resultados dos monitoramentos indicam que os critérios não estão sendo alcançados, deve-se tomar providências adequadas e ação imediatas para assegurar que a situação seja restaurada. A rápida resposta para a detecção de um processo que esteja fora de controle é um dos atributos do sistema HACCP.

**Diagrama de identificação de pontos críticos de controle**

PRINCÍPIO Nº 06**Estabelecer Procedimentos Efetivos de Registros e Documentação**

O plano de HACCP aprovado e registros associados, devem estar guardados em um arquivo no estabelecimento.

PRINCÍPIO Nº 07**Estabelecer o Sistema de Verificação**

O propósito da verificação é o de evidenciar se o sistema HACCP está funcionando corretamente. Existem três processos envolvidos na verificação.

1) Processo Técnico

O procedimento técnico verifica se os limites críticos nos PCC são satisfatórios. Este processo é complexo e requer intensivo envolvimento de profissionais altamente capacitados de uma variedade de disciplinas capazes de realizar a análise e estudos necessários.

2) Processo de Comprovação

É o segundo processo de verificação e assegura que o plano HACCP está funcionando efetivamente. Para que um plano HACCP funcione bem requer pouca amostragem do produto final. Nesta fase alguns exames laboratoriais podem ser necessários para observar se o nível de qualidade pretendido está sendo atingido.

3) Processo de Revalidação

Consiste de revalidações periódicas documentadas, independentes de auditorias ou outros procedimentos de verificação.

4) Comentários

O HACCP deve ser feito considerando cada processo, ele é exclusivo, não devendo ser copiado. Este sistema deve possuir uma equipe multidisciplinar na sua elaboração e verificação para que todos os pontos sejam considerados. Um pré requisito essencial para a implantação do HACCP é a adoção das medidas básicas de Biossegurança.

Programas similares devem existir também no processo anterior ao Incubatório. Sabemos que na produção animal os perigos biológicos são muito mais difíceis de serem controlados que na indústria de alimentos. Por exemplo, sabemos os tempos e temperaturas ideais para cozimento de hambúrguer para eliminar *E. coli*, sendo assim isto pode ser um PCC, entretanto é difícil para a produção animal, ter meios e tecnologia para prevenir, eliminar ou reduzir estes perigos a um nível aceitável.

Algumas intervenções durante a produção da ave podem reduzir ou prevenir certos patógenos como *Salmonella*.

Trabalhando com os planos de HACCP, podemos controlar significativamente um perigo, reduzindo o risco (probabilidade) dele ocorrer ou aumentar. O sistema HACCP não garante que o perigo não ocorra.

5) Referências Bibliográficas

- PIERSON, D. Merle e COVLETT, A. D. - HACCP Principles and Applications, 1992.
- STANFFER, E. J. - Quality Assurance of Food Ingredients, Processing and distribution.
- PIERSON, D. Merle - An Overview of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) and its Application to Animal Production Food Safety, 1996.
- BAILEY, Stan, COX, Nelson and NORMAN, Stern - Risk Management Factors Associated with Implementation of HACCP in the Poultry Industry, 1995.
- ELLIOTT, Philip - Predictive Microbiology and HACCP, 1996.

HATCHERY PATHOLOGY PRINCIPAL DISEASES, CAUSES AND PREVENTIONS *ENVIRONMENTAL MANAGEMENT

Robert Barnwell

COBB-VANTRESS, INC.
P.O. BOX 1030 20634 HWY 412 E
SILOAM SPRINGS, AR. 72761-1030
PHONE 800 748 9719
FAX 501 524 6652
e-mail: Rbamwell-ESlworldnet.att.net

Diseases That Effect Hatchability and Chick quality Can be production or hatchery related.

- | | |
|----------------------------|-------------------------------|
| - Colibacillosis | Ascites |
| - *Pullorum disease | Infectious bronchitis |
| - Arizona disease | Newcastle disease |
| - ** fowl typhoid | Avian encephalomyelitis |
| - Paratyphoid | Mycoplasma gallisepticum |
| - Aspergillosis | Mycoplasma synoviae |
| - Omphalitis | Aflatoxosis (toxic poisoning) |
| - Escherichia coli | laryngotracheitis |
| - * Salmonella pullorum | |
| - ** Salmonella gallinarum | |

Aspergillosis

- Causes. Aspergillus fumigatus and Aspergillus flavus.

Sources are mostly from dirty eggs, sweating eggs, cracked eggs, washing eggs, dirty nest litter, and poor egg shell quality.

- Prevention and control. Bio Security, Sanitation, Proper egg handling, Proper egg holding, Mold free feed, Clean hatchery filters on a routine basis, and Good ventilation.

- Locations. Breeder operation, Hatchery, Chick delivery, and Broiler production.

Escherichia Coli Infection

- ASSOCIATED DISEASES

- | | |
|---|---|
| - air sacculitis | Colisepticemia |
| - omphalitis | Arthritis |
| - salpingitis | Peritonitis |
| - ophthalmitis | coligranuloma |
| - immunosuppressive disorders | |
| - Entrance Mostly Through Navel Passage | |
| - Causes | Viruses, bacteria, mycoplasma, |
| | Environmental conditions, and |
| | Contamination. |
| - Prevention | Bio Security, Sanitation, Hatchery |
| | Environmental control, Environmental stresses and |
| | Condition management, Contamination elimination |

Salmonella Prevention and Control

- Bio Security at farms and hatchery. This includes showers, changing clothes, caps and footwear. Have only one entrance and exit to the hatchery.
- Clean and disinfect all hatchery and farm equipment after each hatch or cycle.
- Clean up breeder flocks.
- Only allow disease negative eggs in hatchery.
- Use only new or disinfected chick boxes.
- Isolate hatchery from all other facilities, including farms, feed mills, and by products plants.
- Provide disinfect pans between each area of the hatchery and renew the disinfect on a regular basis. Change types of disinfect periodically.

ASCITES ONE OF THE HIGHEST COST TO OUR INDUSTRY TODAY WORLDWIDE

- Cold brooding temperatures
- High altitude hatcheries low partial pressure of oxygen in the air
- Inadequate ventilation in hatchery low oxygen levels

- Inadequate ventilation in brood house first 10 days
- Inadequate ventilation in chick delivery truck
- Rapid growth rate genetics of high yielding birds
- High energy feed rations
- High Light intensity and extended hours

ABNORMAL EMBRYOS AND CHICKS

- Lack of oxygen and/or air volume. Inadequate ventilation.
- Lack of temperature control. Too high or too low during incubation. Setters or Hatchers.
- Lack of relative humidity control. Too high or too low during incubation. Setters or Hatchers.
- Incorrect moisture loss. Mostly too little.
- CO2 content of air too high.
- Eggs too large or small.
- Unsanitary hatchery or incubator conditions.
- Breeder rations inadequate.
- Old and/or misshapen eggs.
- Bacterial contamination of eggs.

MAJOR PROBLEMS TO DEAL WITH DAILY

- 1. Lack of bio security
- 2. Lack of preventive maintenance
- 3. Reliable and enough environmental monitoring equipment
- 4. Accurate calibration of controls and placement probes
- 5. Inadequate equipment and controls to maintain proper environment consistently
- 6. Misunderstanding of evaporative cooling
- 7. Priorities of importance

1. LACK OR BIO SECURITY

- 1. Visitors without showers and change of clothing.
- 2. Use of floor eggs and dirty nest eggs.
- 3. Wild birds allowed to enter the house and hatchery.
- 4. Outside washing of hatchery trays and trolleys.
- 5. Failure to properly clean and disinfect facilities.
- 6. Egg delivery trucks not being properly cleaned.
- 7. Dirty or damaged air intake filters.
- 8. Misuse and/or improper sanitizing evaporative coolers.
- 9. Outside and internal doors being left open.

2. LACK OF PREVENTIVE MAINTENANCE ESPECIALLY ON VENTILATION SYSTEMS

- 1. Loose belts on makeup air units
- 2. Dirty shutters, filters, and dampers
- 3. Open, missing, or damaged doors
- 4. Bent or inoperable actuator arms and motors on make up air units
- 5. Dirty, damaged, wrong cooling pads
- 6. Not meeting manufacturers recommendations on equipment
- 7. Rated volume capacities vs actual deliveries of fans and makeup air units

3. ENVIRONMENTAL MONITORING OF ENTIRE HATCHERY

- 1. Oxygen and CO2 levels
- 2. Air movement and volume requirements
- 3. Relative humidity levels
- 4. Room pressures and how they effect machine air volume requirements
- 5. Temperature levels and controls
- 6. Knowing what the conditions are for best incubation results

4. ACCURATE CALIBRATION AND INSTALLATION OF CONTROLS

- 1. Controls must be accurate and adequate for equipment
- 2. Check for accuracy often, against portable instruments
- 3. Don't take for granted things are right or good, periodically check
- 4. Room and plenum pressures always measured to atmosphere and results
- 5. Temperature and humidity wet and dry bulb vs relative
- 6. Location of humidifiers and results
- 7. Placement and location of probes

5. INADIIQUATE EQUIPMENT AND/OR CONTROLS TO MAINTAIN PROPER ENVIRONMENT

- 1. Self closing doors that will hold room pressure from both sides
- 2. Reliable pressure control equipment
- 3. Variable volume makeup air and/or exhaust fans to meet minimum demands
- 4. Proper humidification and the effects on room and machine conditions
- 5. Adequate heating capacity for minimum make up air volumes
- 6. Temperature and humidity controls to operate cooling pumps
- 7. Makeup air and exhaust plenums

6. MISUNDERSTANDING AND MISUSE OF EVAPORATIVE COOLING SYSTEMS

- 1. Pads installed in wrong direction, damaged, and dirty
- 2. Overrunning pumps on pads when humidity in incoming air is too high
- 3. Purge systems regularly to delute % of solids in water recovery system
- 4. Proper type and arrangement of pads in cooling units
- 5. Pad space to match fan capacity at the proper pressure drop
- 6. Water temperature on pads and the effects on evaporation

7. PRIORITIES TO CONSIDER

- 1. Oxygen levels in machines and hatchery at least 19.6%
- 2. Air volume to meet oxygen demand and air exchange to Exhaust CO₂
- 3. Relative humidity throughout hatchery and effects on metabolism
- 4. Room pressure, consistency and how it relates to air volumes
- 5. Air distribution throughout rooms
- 6. Temperature control and monitoring
- 7. Preventive maintenance
- 8. Monitoring of conditions

Air Requirements During Incubation

- Components of Air

- | | |
|------------------|--|
| - oxygen | must be supplied constantly at 19.6% |
| - nitrogen | must be supplied constantly |
| - carbon dioxide | Must be removed by air exchange and exhausting air .3% maximum allowable |
| - water vapor | Must be removed by evaporation and exhausting air 12% in 19 days. |
-
- * Hatchability drops about 5% for each 1% decrease in partial pressure Of available oxygen in the air.

AIR VOLUME REQUIREMENTS FROM TENTH DAY OF INCUBATION IN HATCHERY THROUGH DELIVERY

- Setters minimum 5 cfm 's per 1,000 eggs
- Hatchers minimum 15 cfm 's per 1,000 chicks
- Chick holding minimum 40 cfm 's per 1,000 chick
- Chick transportation minimum 40 cfm 's per 1,000 chick

Relationship Between Altitude and partial Pressure of AVAILABLE Oxygen in Air

Altitude	Reduction	Available
- Sea Level	0	20.5 – 21 %
- 1,500 feet	3.5 %	19.8 – 20.3 %
- 2,000 feet	5.1 %	19.5 – 19.9 %
- 2,500 feet	8.1 %	18.9 – 19.3 %
- 4,000 feet	11.2 %	18.2 – 18.6 %
- 6,000 feet	16.6 %	17.1 – 17.5 %

- One possible solution is to increase the room or fresh air plenum pressure to supply more air to the egg mass in the machine.

HATCHERY RECOMMENDATIONS

- Adequate air volume to meet demands and provide enough heating and cooling to control temperature
- Good separation from one area to the other with self-closing doors
- Accurate pressure control
- use of make up air and exhaust plenums for setters and hatchers
- Steam humidification

HATCHERY CONDITION REQUIREMENTS

- Setter room make up air area positive pressure to atmosphere based on type of machines used
- Hatcher room make up air area positive pressure to atmosphere but slightly negative to setter rooms
- Room temperature from 75 to 78 degrees farenheite consistently
- Room relative humidity from 50 to 65 % consistently

CRITICAL CONSIDERATIONS REGARDING INCUBATION VENTILATION

- Capacity to consume against oxygen concentration gradient
- Lowest oxygen concentration allowed
- Interaction with temperature, RH and rate of moisture loss
- Ability to control room pressures
- Subsequent chick performance

VENTILATION NEEDS PER 1000 EGGS ASSUMING MINIMUM OXYGEN = 19.6 %

AT SEA LEVEL:

TO 12 DAYS = .456 CFM

TO 18 DAYS = .957 CFM

TO 21 DAYS = 1.695 CFM

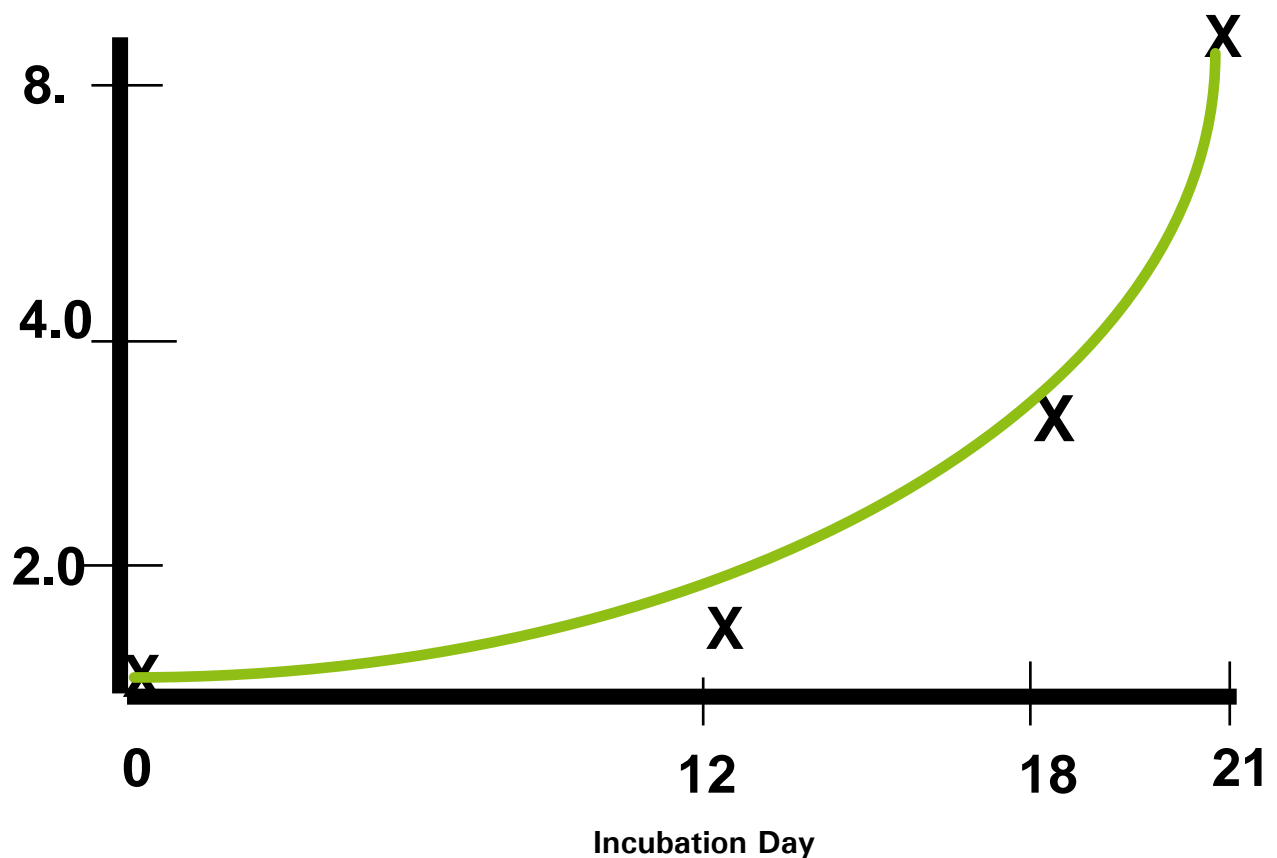
AT 1,500 FEET:

TO 21 DAYS = 1.980 CFM

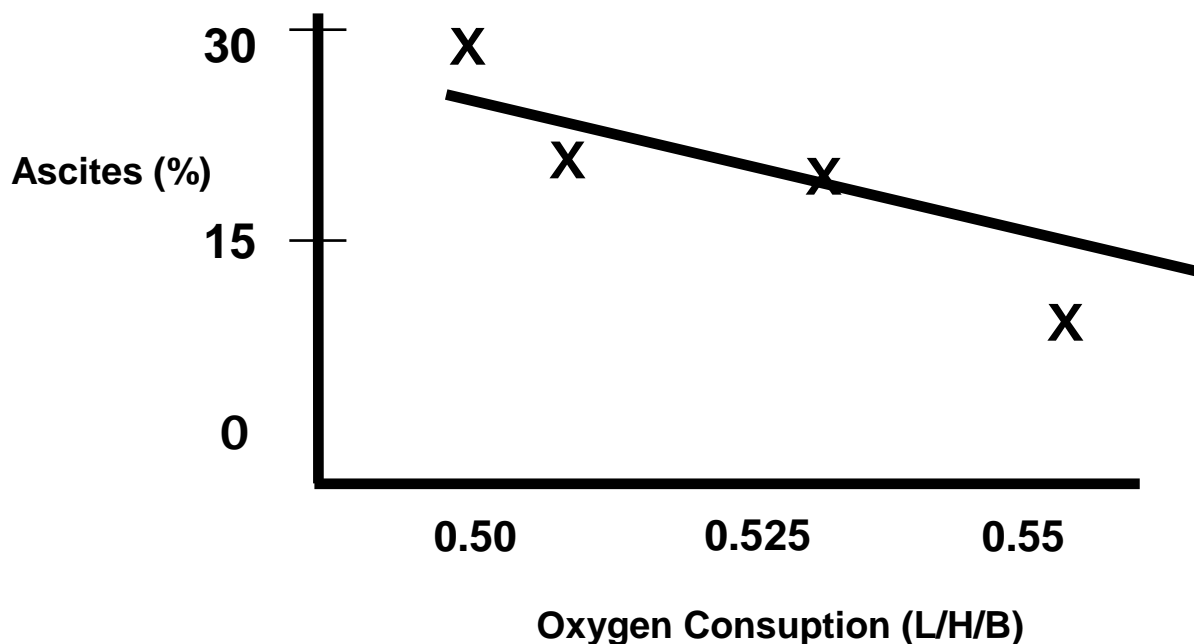
TO 18 DAYS = 4.152 CFM

TO 21 DAYS = 7.333 CFM

Embryo oxygen consumption through incubation



The Oxygen consumption ascites relationship



AIR VOLUME REQUIREMENTS FOR PRODUCTION HOUSES

- Minimum ventilation in brooding house 1 air exchange every 8 minutes to 1 air exchange every 5 minutes
- Summer ventilation in production 1 air exchange every .75 to 1.3 minutes
- These volumes are for oxygen and air quality demand and not only for heat removal

BROILER GROWOUT PERFORMANCE IS BUILT ON CHICK QUALITY

- Poor chick quality is seen as
- Yolk sac infection, dehydration, performance/production loss
- MicroconditionS in hatchery machines
- Hatchery environment, outside conditions, maintenance conditions, hatch settings
- When machine workload is minimized
- Airflow is maximized, microclimated in egg mass is maximized, chick quality quality is maximized
- When machine workload is maximized
- Airflow is decreased, microclimates inside the egg mass are variable, chick quality is decreased, sensors do not reckonize the imbalances

THE END

Thanks for allowing Cobb-Vantress and myself the opportunity to take part in the conference

DESENVOLVIMENTO EMBRIONARIO

Marcos Macari

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Campus de Jaboticabal - Unesp
email: macari@fcav.unesp.br

Introdução

A história da incubação, bem como das formas adotadas pelos antigos para incubação de ovos, pode ser melhor entendida através da leitura dos trabalhos de Romijn (1978). A proposta deste tema é trazer informações referentes a diferentes mecanismos envolvidos na incubação, a fim de que possamos melhor compreender os aspectos relacionados ao manejo que frequentemente adotamos nos incubatórios, bem como as formas alternativas para manipulação do desenvolvimento embrionário. Assim, serão discutidos aspectos da física da incubação, cronologia do desenvolvimento do embrião, mecanismos de diferenciação celular (hiperplasia e hipertrofia), peptídeos e hormônios no crescimento embrionário e influência do campo eletromagnético no desenvolvimento do embrião.

Física da incubação

Os aspectos físicos da incubação estão relacionados com o entendimento das exigências de temperatura, umidade e transporte de gases entre o ar atmosférico e o embrião. Considerando que, na atualidade, as máquinas de incubação têm sido desenvolvidas para atender a sempre crescente demanda de mercado, aspectos relacionados com a manutenção da temperatura, umidade relativa do ar, viragem dos ovos e ventilação são critérios físicos que têm sido pesquisados com muito detalhe pelos fabricantes, pois estão diretamente relacionados com a eclodibilidade dos ovos. No entanto, o entendimento dos efeitos destas variáveis sobre o crescimento do embrião é exigência básica para quem tem responsabilidade de manejo destas máquinas.

De forma diferente do desenvolvimento fetal, o embrião, no ovo, encontra todos os elementos químicos necessários para diferenciação e crescimento dos diferentes tecidos. Assim, fontes de minerais e energia, bem como a disponibilidade de água estão presentes de forma suficiente para o desenvolvimento de um ser vivo, pinto. Um ovo fértil terá necessidade tão somente de fonte de calor (aquecimento), oxigênio (O₂) (pois as reações de síntese são metabólicas oxidativas) e viragem periódica. Os produtos gerados nos processos bioquímicos de desenvolvimento, ficam restritos a gás carbônico (CO₂) e água (H₂O), e devem ser eliminados para o ar ambiente. A Tabela 1 mostra a composição química de um ovo, com suas fontes de nutrientes.

Tabela 1 - Composição química de um ovo (peso médio de 58 g).

Nutrientes	Gema		Albume		Total	
	gramas	%	gramas	%	Gramas	%
Água	9,1	48,9	28,9	87,9	38,0	73,6
Proteínas	3,1	16,6	3,5	10,6	6,6	12,8
Lipídeos	6,1	32,6	traços	-	6,1	11,8
Carboidratos	0,2	1,0	0,3	0,9	0,5	1,0
Minerais	0,2	1,1	0,2	0,6	0,4	0,8

Quando do desenvolvimento do embrião há necessidade de que o mesmo troque gases e vapor d'água com o ar atmosférico. Estas trocas somente são possíveis devido aos poros existentes na casca, sendo que aproximadamente 10.000 poros são encontrados em um ovo.

Com o crescimento do embrião ocorre uma redução na quantidade de água dentro do ovo, sendo esta necessária, a fim de prover espaço com volume de ar necessário para a respiração do embrião. Por outro lado, a redução no volume água ocorre tendo em vista que o pinto quando nasce deve conter o mesmo percentual de água do ovo, ou seja, ao redor de 72 a 74%. Considerando que ocorre formação de água metabólica durante o desenvolvimento, parte desta água deve ser perdida para manter a mesma proporcionalidade de água.

A perda de água ocorre através de processos de difusão pelos poros da casca, sendo que a quantidade de água eliminada representa 12,6% da massa total do ovo, o que corresponde em um período de incubação de 21 dias, a 0,6% da massa total do ovo/dia. A quantidade de água eliminada fica também na dependência de outros fatores, tais como: umidade relativa do ar dentro da incubadora, porosidade funcional da casca, pressão de vapor d'água no ambiente, temperatura ambiente e pressão parcial de gases. A porosidade funcional é também denominada de condutância, pois representa a capacidade que a casca tem de conduzir substâncias através da mesma.

Os poros da casca sempre estão preenchidos com gases ou vapor d'água, e o espaço entre as membranas interna e externa também fica cheio de ar. Dessa forma, o embrião e seu sistema de troca gasosa, o alantóide, ficam envoltos em uma atmosfera gasosa e desenvolvem-se neste meio. Composição adequada de gases é necessária para o bom desenvolvimento do embrião (Visschedijk, 1987).

Do ponto de vista físico, existem algumas barreiras que devem ser vencidas, a fim de propiciar oxigenação adequada aos embriões quando em desenvolvimento nas incubadoras, pois haverá necessidade de fluxo de oxigênio da atmosfera para o embrião. Algumas destas barreiras são inerentes às próprias características do ovo, e outras, da máquina de incubação. A Fig. 1, ilustra quais as principais barreiras ao fluxo de oxigênio.

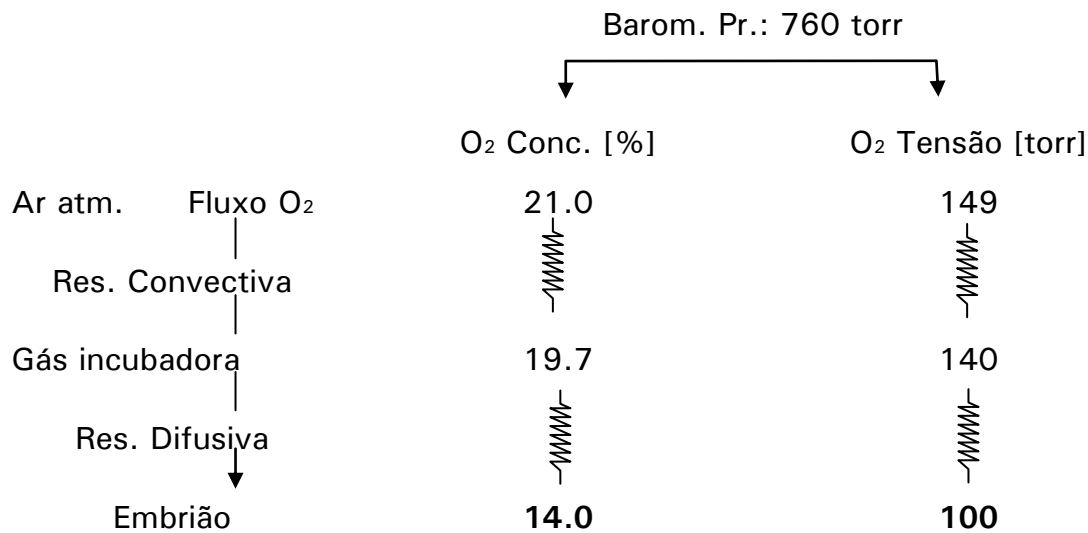


FIG. 1 - Concentração de oxigênio e tensão gasosa no processo de incubação.

A **resistência convectiva** é aquela oferecida pelos sistemas de entrada e saída de ar das incubadoras, e pode limitar a ventilação ou transporte convectivo dos gases. Esta é, portanto, uma característica inerente ao projeto de construção de cada máquina, e pode influenciar a eclodibilidade dos ovos, caso não ofereça valores compatíveis com as necessidades de troca gasosa do embrião, em diferentes condições ambientais.

Resistência difusiva é uma propriedade inerente ao ovo, e tem como função limitar o transporte de gases através dos poros da casca. Do ponto de vista físico, as concentrações de oxigênio (%) e tensões de oxigênio (torr) na atmosfera e no embrião, ao redor do 17º a 19º dias de incubação, quando ocorre equilíbrio no consumo de O₂, são as descritas na Fig. 1. Assim, para se obter condições gasosas ótimas para o desenvolvimento do embrião deve-se levar em consideração as variáveis: composição gasosa do ar atmosférico, pressão barométrica no ambiente, taxa de ventilação das máquinas de incubação, porosidade funcional da casca e taxa de captação de oxigênio pelo embrião. Alterações em uma destas variáveis, necessita de ação compensatória, a fim de obtermos condições ótimas de perda de água e gases para o desenvolvimento do embrião.

A Fig. 1 mostra que quando a concentração de O₂ no gás atmosférico é 21% (149 torr de tensão de O₂), a concentração no embrião é de apenas 14% (100 torr), sendo esta diferença devido as *resistências convectivas e difusivas* do sistema (ovo e incubadora).

Considerando que a concentração de um gás em porcentagem é um termo relativo (Lundy, 1969), pois não representa a concentração química efetiva que atua nos sistemas biológicos, o correto é expressar a tensão efetiva do gás, que é calculada com base no volume de gás que é saturado com pressão de vapor em uma determinada temperatura da máquina de incubação. Dessa forma, as tensões de oxigênio e gás carbônico devem ser expressas em torr, e não em porcentagem de gás no ar atmosférico. Na câmara de ar do ovo quando incubado à temperatura de 37,8º C ocorre saturação do ar dentro da mesma, ou

seja, a umidade relativa é de 100%, o que representa uma pressão de vapor de água de 40 torr (ver Fig. 2).

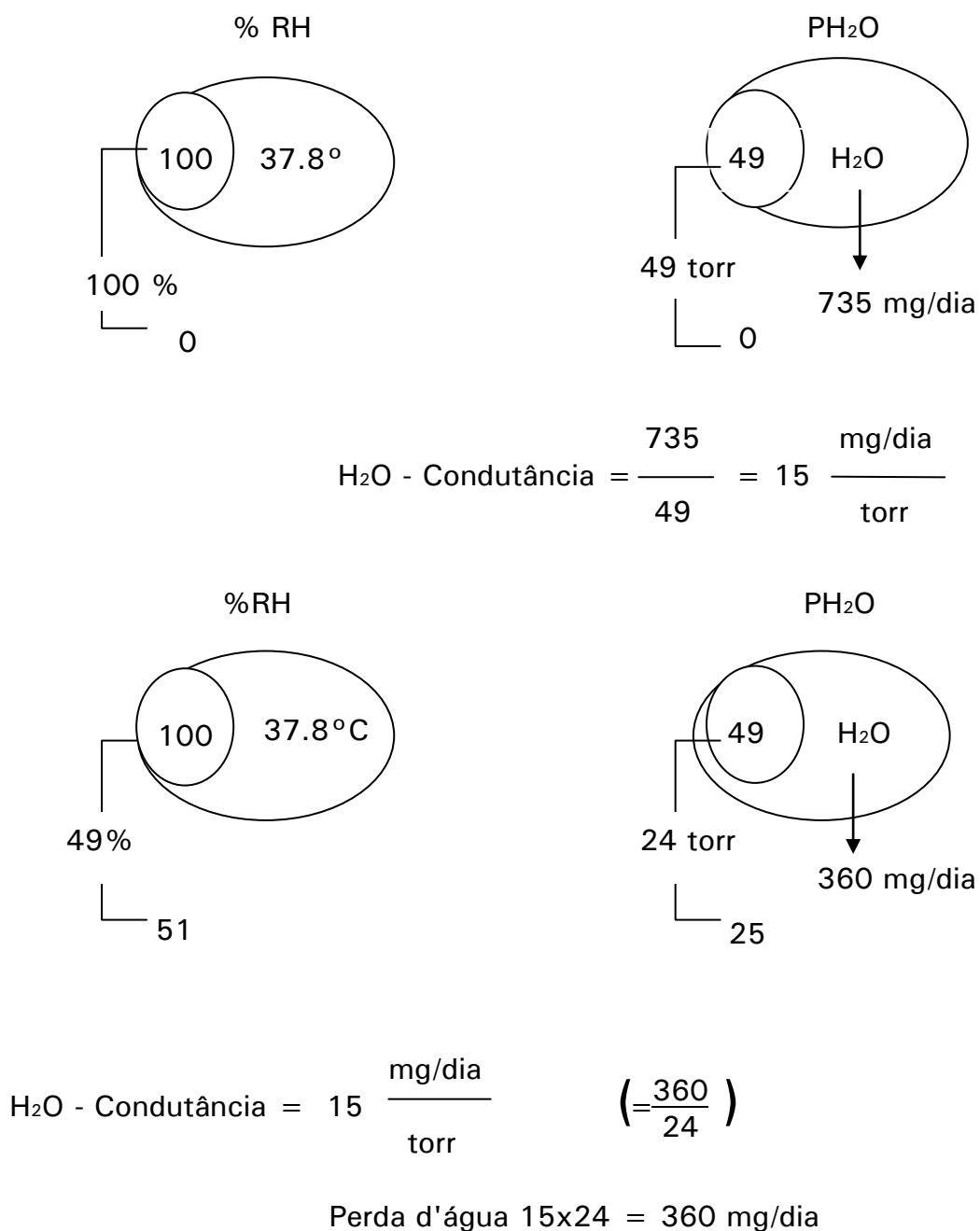


FIG. 2 - Umidade relativa, pressão de vapor d'água e perda de água do ovo quando incubado em ar seco (0% e 51% umidade relativa do ar).

Considerando que a condutância é inverso da resistência, melhor, também, é expressar as variáveis convectiva e difusiva em, *condutância convectiva e condutância difusiva*, sendo a primeira propriedade da máquina e a segunda características da casca do ovo. Assim, cálculos matemáticos podem ser realizados para expressar estas dimensões físicas envolvidas no processo de incubação. Na Fig. 2 são mostradas duas situações que permitem calcular este parâmetro, sendo assumido na primeira situação uma condição de umidade relativa do ar externa de 0%, e na segunda situação, umidade relativa do ar de 51%.

Primeira condição:

Ovo sendo incubado a 37,8° C e umidade relativa do ar dentro da incubadora de 0%. Considerando que há saturação na câmara de ar do ovo, a umidade relativa de 100% corresponde a 49 torr de tensão. Nesta situação haverá um força de dentro para fora do ovo, fazendo com que ocorra a perda de água devido a diferença de pressão de vapor. A quantidade de água eliminada é usualmente de 735 mg H₂O/24 h/49 torr de diferença de pressão de vapor, ou, **15 mg H₂O/24h/torr**. Este é valor da **condutância difusiva** ou também chamada de **porosidade funcional** da casca do ovo.

Segunda condição:

Ovo sendo incubado a 37,8° C e umidade relativa do ar dentro da incubadora de 51%. Nestas condições a diferença de pressão de vapor (dentro e fora do ovo) não mais será de 49 torr, mas sim de: $0,51 \times 49 \text{ torr} = 25 \text{ torr}$ de pressão. Considerando que a porosidade funcional da casca é de 15 mg H₂O/24h/torr, a perda de água do ovo nestas condições de incubação será de: $15 \times (49-25) = 360 \text{ mg H}_2\text{O}/\text{dia}$.

Assim, o fluxo de gás ou de vapor de água através da casca do ovo é determinado pela condutância \times diferença de pressão (interna - externa). Os valores calculados de condutância para oxigênio e gás carbônico foram:

Condutância O₂ = 15,5 mL/dia por torr

Condutância CO₂ = 12 mL/dia por torr

Lembrar que a nível do mar a pressão efetiva de O₂ no ar é de 149 torr à temperatura de incubação de 37,8° C; no entanto, quando em diferentes altitudes a pressão efetiva do O₂ no ar será sempre menor do que 149 torr, pois a pressão barométrica diminui e a tensão efetiva do oxigênio também cai.

A condutância convectiva da máquina de incubação pode ser calculada, sendo:

Condutância convectiva da incubadora = CO₂ eliminado/ Δp CO₂ (entra - sai)

Temperatura e umidade relativa do ar para incubação

O efeito da temperatura de incubação sobre o desenvolvimento do embrião tem sido assunto de muita investigação. Recentemente foi publicado na revista Poultry Science n.76 (1997) um excelente simpósio sobre incubação e, French (1997) mostrou alguns efeitos da temperatura sobre o desenvolvimento do embrião. Trataremos de algumas particularidades sobre o efeito da temperatura de incubação sobre o desenvolvimento embrionário.

Wilson (1991) mostrou que para as aves a temperatura de incubação encontra-se entre 37° C e 38° C, sendo que variações muito acima ou abaixo destes valores comprometem a eclodibilidade dos ovos. Considerando, que a temperatura é o fator determinante em induzir o início, e posterior manutenção do desenvolvimento do embrião, a manutenção desta é função de: a) temperatura da máquina de incubação, b) a troca de calor entre o embrião e o meio ambiente da incubadora e c) a capacidade de produção de calor pelo embrião.

A temperatura do ovo é função de variáveis importantes e que direta e indiretamente influenciam a troca de calor entre o embrião e o meio. Assim, a equação abaixo define estas variáveis:

$$\text{Temp}_{\text{ovo}} = T_{\text{inc}} + [HP_{\text{emb}} - HL_{(\text{água/vapor})}]/K$$

onde: Temp_{ovo} - temperatura do ovo (°C)

HP_{emb} - produção de calor pelo embrião (Watts)

$HL_{(\text{água/vapor})}$ - perda de calor através de vapor d'água (Watts)

K - condutância do ovo e ar ambiente (Watts/°C)

É importante salientar que em um embrião em desenvolvimento a temperatura é mantida constante; assim, a quantidade de calor produzido pelo embrião deverá ser igual a de calor perdido. Dessa forma, a equação que rege o equilíbrio calórico pode ser aplicada:

$$HP_{\text{emb}} = HL_{(\text{água/vapor})} \pm HL_{\text{rad}} \pm HL_{\text{conv}}$$

onde: HP_{emb} - produção de calor do embrião

$HL_{(\text{água/vapor})}$ - perda de calor através de vapor d'água

HL_{rad} - perda de calor por irradiação

HL_{conv} - perda de calor por convecção

Para se estimar a quantidade de calor ganho ou perdido pelo embrião, a equação acima pode ser reescrita como: $HP_{emb} - HL_{(água/vapor)} = HL_{rad} \pm HL_{conv}$. Considerando que a perda de calor pelo processo de irradiação (HL_{rad}) é dependente da diferença de temperatura entre o ovo e o ambiente, e esta diferença é pequena (ou mesmo negativa), dependendo do estágio de desenvolvimento do embrião, podemos considerá-la como sendo nula, ou seja, $HL_{rad} = 0$. Assim, a equação ficaria: $HP_{emb} - HL_{(água/vapor)} = HL_{conv}$. Portanto, a maior parte do calor perdido pelo embrião é através da convecção, e neste sentido, dependente da ventilação que é feita sobre os ovos.

Na equação acima, a quantidade de água perdida pelo embrião equivale a 12% da massa total do ovo, sendo a mesma perdida através do mecanismo evaporativo. É sabido que para evaporar 1 g de água são necessárias 560 cal. Dessa forma, um ovo de 60 g perderia o equivalente a 0,4 g de H_2O /dia, ou seja, 232 cal/dia (que é igual a 11,2 mW).

O metabolismo oxidativo do embrião gera uma certa quantidade de calor, que pode ser mensurada através do consumo de oxigênio. Vleck & Vleck (1987) mediram a quantidade de oxigênio consumida por um embrião antes da eclosão, e verificaram que o embrião consumia 570 mL de O_2 /24 horas. Tendo em vista, que para cada litro de O_2 consumido é gerado 4,69 kcal, a quantidade de calor produzida pelo embrião é equivalente a 2,67 kcal/dia, ou 130 mW.

Através dos valores acima podemos inferir que uma máquina de incubação com 1.000 ovos terá uma produção de calor de 130 W/24 horas.

Como mostrado anteriormente, a temperatura do embrião dependerá também da condutividade térmica dos meios; assim, teremos a condutividade térmica do ovo (C_{ovo}) e a condutividade térmica do ar ambiente (C_{ar}). Sotherland et al. (1987) mostraram que a condutividade térmica do ar ambiente é aproximadamente 100 vezes maior do que a do ovo, e neste sentido é a maior barreira de troca térmica entre o embrião e o meio. Estes autores mostraram que a condutividade térmica do ar dentro da incubadora pode ser calculada, e é dependente da velocidade do ar (V) e da massa do ovo.

$$C_{ar} = (0,97 V^{0,6}) M^{0,53} \text{ (Sotherland et al., 1987),}$$

onde: V - velocidade do ar em cm/s

U - massa do ovo (gramas)

Esta equação é de grande relevância, pois mostra que a variação da velocidade do ar dentro da máquina altera a condutividade térmica do ar, e permite troca de calor do embrião com o meio. Na fase final do desenvolvimento do embrião esta troca torna-se relevante, pois será o agente que permitirá gradiente de temperatura do embrião para a máquina de incubação ($T_{emb} - T_{ar}$), e quanto menor a velocidade do ar, maior será esta diferença, podendo prejudicar o desenvolvimento embrionário.

Orientação e movimentação dos ovos (viragem)

A viragem dos ovos é um processo que foi descrito há muito, e praticado pelos antigos (China e Egito) na incubação artificial. Várias são as consequências da falta de viragem dos ovos durante a incubação, e dentre elas podemos citar: redução da eclodibilidade, aumento da mal posição do embrião, ruptura do saco vitelino e vasos sanguíneos, diminuição da utilização do albume, redução da troca gasosa, retardo do desenvolvimento da região vascular, adesão do embrião na membrana interna da casca.

Os trabalhos têm mostrado que a viragem é mais importante nos 2/3 iniciais do período de incubação, com período crítico entre o 3º e 7º dias, sendo que o ótimo seria 96 vezes/24 h, mas que na prática é utilizado 24 vezes/24 h.

Cronologia do desenvolvimento do embrião

Várias são as publicações que mostram a cronologia do desenvolvimento do embrião. Assim, o conhecimento destas datas (dias e horas) tornam-se relevantes, principalmente quando associados a: problemas na máquina de incubação ou tentativas de manipulação embrionária. Assim, superaquecimento ou resfriamento na máquina em diferentes datas, poderá ter diferentes consequências sobre o desenvolvimento, eclodibilidade, mortalidade, malformações dos embriões.

A Tabela 2 mostra os principais períodos do desenvolvimento do embrião, de acordo com Beig (1993).

Tabela 2 - Cronologia dos desenvolvimento do embrião durante a incubação.

Dia	Hora	Fase do desenvolvimento embrionário
1	16h	Formação do eixo embrionário longitudinal. Linha primitiva
	18h	Início da segregação das células do mesoblasto
	20h	Início da formação da notocorda
	22h	Formação dos primeiros somitos mesodermiais. Esboço inicial da dobra da cabeça
	24h	Estabelecimento das primeiras ilhas de sangue na área opaca vascularizada. Individualização das dobras neurais e início da formação do sistema nervoso. O embrião pesa $\pm 0,0002g$
2	26h	Início da formação do intestino anterior
	28h	Dobras neurais se aproximam e se fundem, dando lugar à formação do tubo neural
	30h	Início da formação do coração. Aparecimento das vesículas ópticas (olho) na extremidade anterior no tubo neural
	34h	Diferenciação e subdivisão do tubo neural. Estabelecido o coração e formação inicial das vesículas ópticas (ouvido)
	40h	A extremidade anterior do embrião inicia rotação no sentido anti-horário. Vesículas ópticas bem individualizadas. Início da flexão cranial e cervical
3	44h	Início dos batimentos cardíacos. Sistema circulatório intra e extra-embrionário fechados. Início da circulação do sangue. Embrião pesa $\pm 0,003g$
	50h	Início da formação do âmnio. Flexões cranial e cervical mais profundas. Início da formação do intestino posterior, com dobra da cauda. Desaparece a linha primitiva.
	54h	Formação dos arcos aórticos. Dobramento do coração sobre si mesmo. Âmnio já cobre a metade anterior do embrião.
	60h	Surgimento da epífise. Início da formação dos rudimentos de asa e de pata. Dobras laterais do corpo mais pronunciadas. Início da formação das narinas.
	72h	Projeção do intestino posterior. Formação da dobra amniótica na porção posterior do embrião. Maior projeção da cauda. Formação inicial do alantóide. Embrião pesa $\pm 0,02g$
4		Embrião fica ligado ao saco vitelino pelo pedúnculo vitelínico, como resultado da rotação do corpo e fechamento do intestino anterior e posterior. Início da formação da língua. Completa-se a formação do âmnio e fica estabelecida a bolsa amniótica. Projeção do alantóide na cavidade sero-amniótica. Embrião pesa $\pm 0,05g$
5		Início da formação dos órgãos reprodutores e diferenciação dos sexos. Área vascularizada ocupa os 2/3 superiores da gema. Alantóide torna-se funcional e dá início da transformação de cartilagem em osso. Embrião pesa $\pm 0,14g$
6		Início da formação do bico, com definição da maxila superior e mandíbula. Início de movimentos voluntários. Embrião pesa $\pm 0,30g$
8		Início da formação das penas. Estabelecimento do "diamante" na porção superior do bico. Embrião pesa $\pm 1,15g$
10		Endurecimento do bico. Embrião pesa $\pm 2,30g$
13		Aparecimento de escamas e unhas nas patas. Embrião pesa $\pm 7,30g$
14		Embrião altera sua posição em relação ao eixo longitudinal do ovo. A cabeça fica voltada para a câmara de ar. Embrião pesa $\pm 10,0g$
16		Albume quase totalmente consumido. Embrião pesa $\pm 16,0g$
18		Redução do líquido amniótico. Saco vitelino entra gradativamente no corpo do embrião. Embrião pesa $\pm 22,0g$
20		Bico rompe a membrana da casca da câmara de ar. Pulmões começam a funcionar. Embrião ocupa espaço disponível do ovo. Saco vitelino incorporado. Peso $\pm 30,0g$
21		Eclosão.

Uma abordagem interessante relacionada ao desenvolvimento embrionário tem sido o dimorfismo sexual *in ovo*, pois embriões de pintos machos são mais pesados do que embriões de pinto fêmea entre o 8º e 15º dias de incubação (Burke and Sharp, 1989; Mitchell & Burke, 1995^a). É interessante salientar que existem vários trabalhos na literatura que não mostraram diferenças no peso entre embriões de pinto machos e fêmeas; no entanto, várias são as causas destas discrepâncias, sendo que a principal delas é o peso dos ovos. Por outro lado, Henry & Burke (1998) relataram que a diferença no peso dos embriões entre sexos não mais é evidente no 20º dia de incubação.

Considerando que, a musculatura esquelética de pintos machos desenvolvem-se mais do que a das fêmeas, trabalhos tem tentado mostrar se esta característica está associada ao dimorfismo sexual no embrião, ou seja, se os embriões de pintos machos têm maior número de fibras musculares dos que os embriões de pintos fêmeas. Assim, Kikuchi (1971) e Kikuchi et al.(1972) mostraram que entre o 10º até o 16º dias de incubação ocorre um acentuado aumento do número de fibras musculares nos embriões, mas não relatou diferenças entre machos e fêmeas. Recentemente, Henry & Burke (1998) mostraram que existem diferenças nas características da musculatura esquelética entre embriões de diferentes sexos. Embriões de pintos machos têm maior número de fibras do que embriões de pintos fêmeas, porém o tamanho das fibras é menor para os machos. Outro fator que controla o desenvolvimento das fibras a nível embrionários é o genótipo, pois aves de diferentes genótipos parecem ter números e tamanho de fibras diferentes (Sartori et al.,1997).

Mecanismos de diferenciação celular (hiperplasia e hipertrofia)

A proliferação celular é um processo que ocorre em todos os tecidos do organismo animal. Contudo, este processo está relacionado com o período de desenvolvimento dos tecidos, pois alguns deles têm o desenvolvimento a nível embrionário, outros tanto a nível de embrião quanto na fase pós-eclosão. A Tabela 3 mostra as características de alguns tecidos humanos.

Tabela 3 - Períodos de hiperplasia de tecidos humanos (Lawrence & Fowler, 1997).

Tecido	Tipo	Período	Duração de hiperplasia Humanos
Neurônios	Determinado	pré-natal	2,5 meses
Fibra muscular	Determinado	pré-natal	3,5 meses
Túbulo seminífero	Determinado	pré-natal	6 meses
Nefrons	Determinado	pré-natal	8 meses
Coração	Determinado	pré-natal	9 meses
Alvéolo pulmonar	Determinado	pós-natal	9 anos
Vilo intestinal	Determinado	pós-natal	10 anos
Folículo ovariano	Indeterminado	pós-natal	40 anos
Folículo tireóide	Indeterminado	pós-natal	90 anos
Tecido hepático	Indeterminado	pós-natal	90 anos
Ácino exócrino	Indeterminado	pós-natal	90 anos
Célula endócrina	Indeterminado	pós-natal	90 anos
Célula sanguínea	Indeterminado	pós-natal	90 anos

De acordo com a Tabela, pode-se inferir que os tecidos tem o crescimento inicial baseado no aumento do número de células (hiperplasia), sendo que este mecanismo de proliferação celular pode ocorrer durante a vida pré-natal (desenvolvimento embrionário). Por exemplo, o número de fibras que compoem a musculatura esquelética dos frangos de corte. Este número é determinado através do genótipo, e na fase embrionária. Pós-eclosão, o desenvolvimento da carcaça do frango ficará na dependência do desenvolvimento destas células através do mecanismo de hipertrofia celular. Contudo, outros tecidos podem ter atividade hiperplásica na vida pós-natal, como ocorre com o tecido hepático. Assim, o desenvolvimento do embrião confere algumas características fundamentais para o desenvolvimento da futura carcaça, pois através da atividade de hiperplasia que ocorre na musculatura esquelética definirá a potencialidade do crescimento pós-eclosão da ave.

Peptídeos e hormônios que atuam no crescimento embrionário

São inúmeros os hormônios que atuam no desenvolvimento do embrião, sendo que os mesmos poderão ter ação autócrina, parácrina ou endócrina. A produção dos hormônios ou peptídeos pelo embrião obedece a uma cronologia que implica na síntese e degradação de proteínas, a fim de que possa ocorrer a diferenciação celular e os processos de hiperplasia e hipertrofia tecidual. A Tabela 4 mostra a cronologia de alguns hormônios envolvidos no desenvolvimento do embrião.

Tabela 4 - Cronologia do aparecimento de hormônios e peptídeos envolvidos com o crescimento embrionário (Rogers, 1995).

Dia	Hormônios ou peptídeos
4	Inicia-se a síntese de estrógeno e 17- β estradiol
5	Começa a síntese de corticosterona e de testosterona. Neurônios secretores de LH-RH estão presentes no hipotálamo
7	A secreção de testosterona começa a aumentar, sendo maior nos machos. Também ocorre aumento no plasma da concentração de 17- β estradiol
8	Início da secreção de ACTH e a glândula adrenal produz adrenalina
10	Há secreção de hormônio tireoideano. 17- β estradiol se liga as células da região pré-óptica hipotalâmica
12	Há um acentuado aumento das células produtoras de LH
13	É estabelecido o eixo pituitária-gonadal. Neuro-hipófise é ativada. Nas fêmeas, a secreção de 17- β estradiol aumenta rapidamente e, nos machos ocorre pico secretório de testosterona
14	Fêmeas começam a produzir estradiol
15	Atividade tireoideana aumenta. Níveis de testosterona no plasma das fêmeas atinge pico
17	Níveis de LH no plasma é igual aos adultos. Testosterona nos machos diminui e de 17- β estradiol nas fêmeas cai suavemente, até após a eclosão
19	Níveis de LH no plasma está no pico
20	Nos machos, testosterona no plasma aumenta novamente e, nas fêmeas, aumenta de forma consistente.

A ação dos hormônios no crescimento pré- ou pós-eclosão está baseada nos mecanismos de síntese e degradação protéica. Assim, os mecanismos transcripcionais (DNA para mRNA) e traducionais (mRNA para proteína) têm grande relevância para a hiperplasia ou hipertrofia celular. Por outro lado, os peptídeos (moléculas protéicas com baixo peso molecular) são fundamentais para a diferenciação celular. Os tecidos têm origem de células indiferenciadas, chamadas de “células pluripotentes” ou “stem cells” que sob ação dos peptídeos sofrem processos de diferenciação originando os mioblastos (fibras musculares), adipoblastos (células adiposas), etc. A Tabela 5 mostra uma relação de peptídeos que atuam nos processos de proliferação, diferenciação e secreção celular.

O crescimento é o produto líquido entre a síntese e degradação protéica. A Tabela 6 mostra a ação de hormônios nestes processos e evidencia a ação sobre o desenvolvimento. Assim, o crescimento do embrião dependerá, além dos processos físicos associados à incubação, da ação destes hormônios que atuam na síntese protéica.

Tabela 5 - Peptídeos que atuam nos processos de diferenciação e proliferação celular (Navakofski & McCusker, 1993).

Peptídeo	Proliferação celular	Diferenciação celular	Secreção*
IGF-I	↑	↑	+
IGF-II	↑	↑	+
FGF	↑	↓	+
EGF	↑	↓	?
PDGF	↑	↓	+
TGF-β	↓	↓	+

* Secreção - significa que o peptídeo tem capacidade de estimular a atividade de secreção das células, ou seja, produzir algum tipo de proteína.

Tabela 6 - Hormônios que atuam na síntese e degradação protéica.

Hormônio	Síntese protéica	Degradação protéica	Efeito líquido
Insulina	↑↑	↓↓	↑
IGFs	↑	--	↑
Catecolaminas	↑	↓	↑
Hormônio tireoideano			
Eutireoidismo	↑↑	↑	↑
	↑	↑↑	↓
Hipertireoidismo			
Glicocorticóides	↓	↓	↓
Excesso	--	↑↑	↓
glicocorticóides			
Andrógenos	↑	--	↑

Influência do campo magnético sobre o desenvolvimento embrionário

A sugestão de que campos magnéticos fracos podem afetar sistemas biológicos tem provocado muita controvérsia nos meios científicos. Apesar das controvérsias, alguns trabalhos têm evidenciado que campos magnéticos de baixa frequência, da ordem do campo magnético da terra, podem interagir com sistemas biológicos *in vitro* (Cleary, 1993) e *in vivo* (Anderson, 1993). Estas evidências experimentais estão em contraste com os argumentos dos físicos, os quais não consideram a possibilidade destas interações. Assim, nenhum modelo foi proposto, até o momento, para pesquisar estas interações. Engstrom (1997) discute a escala de tempo necessária para a interação do campo magnético com os sistemas biológicos. Assim, mostraremos alguns experimentos em que o desenvolvimento embrionário foi utilizado para pesquisar esta interação.

Delgado et al.(1982) aplicaram campos magnéticos de muito baixa frequência (10 Hz, 100 Hz e 1.000 Hz) e intensidade de 0,12, 1,2 e 12 μ T (micro-Tesla) durante as 48 h de desenvolvimento embrionário e mostraram que 100 Hz/1,2 μ T teve efeito inibitório sobre a embriogênese. O desenvolvimento foi prejudicado quanto a formação das 3 camadas primitivas, sendo que os processos de desenvolvimento do sistema nervoso e angiogênese foram afetados. Mostraram ainda que glicosaminoglicanas estavam praticamente ausentes. Toda a angiogênese foi bloqueada em campos de 1.000 Hz/12 μ T.

Ubeda et al.(1983) também mostraram efeitos teratogênicos quando da exposição dos embriões (nas primeiras 48 h de vida) a campos magnéticos de baixa intensidade. Recentemente, Veicsteinas et al. (1996) não foram capazes de detectar anomalias no desenvolvimento dos embriões quando da exposição a campos magnéticos intermitentes de 2h expostos/22 h não-expostos, com

intensidade de 200 μ T (horizontal e sinusoidal - 50 Hz). No entanto, Youbicier-Simo (1997) evidenciaram que embriões expostos a campos magnéticos emitidos por tubos de raios catódicos de TV ou mesmo tela de monitor de microcomputador foram capazes de aumentar a mortalidade embrionária, reduzir os níveis e corticosterona circulante, bem como alterar a resposta imune dos pintos. Assim, os efeitos de campos magnéticos de baixa intensidade sobre o desenvolvimento embrionário devem ser melhor pesquisados

Referências Bibliográficas

- ANDERSON, L.E.(1993) Biological effects of extremely low-frequency electromagnetic fields: in vivo studies. *Am.Ind.Hyg. Assoc.J.* n.54: p.186-196
- BEIG, D. (1993) O ovo de incubação. *Anais Conferência Apinco*, pp.47-66, Santos,SP
- BURKE, W.H & SHARP, P.J.(1989) Sex differences in body weight of chicken embryos. *Poultry Sci.* n.68: p.805-810
- CLEARY, S.F.(1993) A review of in vitro studies: low frequency electromagnetic fields. *Am.Ind.Hyg.Assoc.J.* n.54: p.178-185.
- DELGADO, J.M.R.; LEAL, J.; MONTEAGUDO, J.L. and GRACIA, M.G. (1982) Embryological changes induced by weak, extremely low-frequency electromagnetic fields. *J. Anat.* n.134: p.533-551.
- ENGSTROM, S. (1997). What is the time scale of magnetic field interaction in biological systems? *Bioelectromagnetics* n.18: p.244-249.
- FRENCH, N.A. (1997) Modeling incubation temperature: the effects of incubator design, embryonic development, and egg size. *Poultry Sci.* n.76: p.124-133
- HENRY, M.H. & BURKE, W.H. (1998) Sexual dimorphism in broiler chick embryos and embryonic muscle development in late incubation. *Poultry Sci.* N77: p.728-736
- KIKUCHI; NAGATANI, T. and TAMATE, H. (1972). Studies on development and differentiation of muscle. V. A comparative study on the growth of the hatching muscle and other muscle in chick embryo. *Tohoku J.Agric. Res.* n.23: p.149-159
- KIKUCHI, T. (1971). Studies on development and differentiation of muscle. III. Especially on the mode of increase in the number of cells. *Tohoku J. Agric. Res.* N.22: p.1-15.
- LAWRENCE, T.L.J. and FOWLER, V.R. (1997). Growth of farm animal. CAB International, 330p.
- MITCHELL, R.D. and BURKE, W.H.(1995). Genotype and sexual influences on growth and muscle development of chicken embryos. *Growth, Dev. Aging* n.59: p.31-44.
- NAVOKOSKI, J. and McCUSTER, R.H. (1993). Physiology and principles of muscle growth. In: *Growth of the Pig*. Ed. By. G.R. Hollis, CAB International, pp.33-48.
- ROGERS, L.J. (1995). The development of brain and behaviour in the chicken. CAB International, 273pp.

- ROMIJN, C. (1978). Kunstmatig broeden en europese vorstenhuizen. Tijdschrift voor Diergeneeskunde, n.103: p.629-640.
- SARTORI, J.R.; GONZALES, E.; DALL PAI, V.; VASQUES, L.H. e MACARI, M. (1997). Estudos preliminares de morfometria de fibras de músculos esqueléticos de frangos de corte. Conferência Apinco, Anais, pp.40.
- SOTHERLAND, P.R.; SPOTILA, J.R. and PAGANELLI, C.V. (1987). Avian eggs: barriers to exchange of heat and mass. J. exp. Zool. (Suppl. 1): p.81-86.
- UBEDA, A.; LEAL, J.; TRILLO, M.A.; JIMENEZ, M.A. and DELGADO, J.M.E. (1983). Pulse shape magnetic fields influences chick embryogenesis. J. Anat. 137: p.513-536.
- VISSCHEDIJK, A.H.J. (1987). Air space: the embryonic medium. J. Exp. Zool (Suppl.1): p.193-201.
- VLECK, C.M. and VLECK, D. (1987) Metabolism and energetics of avian embryos. J. exp. Zool. (Suppl. 1): p.111-126.
- WILSON, H.R. (1991). Physiological requirements of the developing embryo: temperature and turning. Ch.9, pp.145-156. In: Avian Incubation, S.G. Tullet, ed. Butterworth, London, UK.
- YOUBICIER-SIMO, B.J.; BOUDARD, F.; CABANER, C. and BASTIDE, M. (1997) Biological effects of continuous exposure of embryos and young chickens to electromagnetic fields emitted by video display units. Bioelectromagnetics n.18: p.514-523.

PROCEDIMENTOS BÁSICOS PARA REDUÇÃO DOS RISCOS DE TRANSMISSÃO DO VÍRUS DA LEUCOSE AVIÁRIA, Subgrupo J (VLA-J)

Paulo Lourenço da Silva

rezsup@nanet.com.br
Granja Rezende
Uberlândia, MG.

Leucose Aviária é um termo genérico, geralmente usado para designar uma doença neoplásica em aves causada pela infecção por retrovírus formadores de tumores.

Pesquisas recentes, identificaram um novo subgrupo do vírus da leucose aviária denominado subgrupo J (VLA-J), com diferentes cepas, com alto índice de incidência em lotes de reprodutoras pesadas nos EUA e outras partes do mundo. Este agente tem como manifestação patológica em aves, um quadro nosológico conhecido como Leucose Mielóide (LM).

Este novo subgrupo, pode ser transmitido verticalmente (infecção congênita do albúmen do ovo e embrião do pinto) e horizontalmente (contato com aves infectadas ou fômites).

A transmissão horizontal do VLA-J é altamente eficiente, o que diferencia este subgrupo dos outros subgrupos de retrovírus aviários. A transmissão horizontal pode ocorrer rapidamente durante as primeiras semanas de idade, e os métodos convencionais de diagnósticos não são capazes de identificar esta transmissão antes das serem aves infectadas.

O aumento da mortalidade de galinhas, principalmente após a maturidade sexual, é a mais evidente sintomatologia clínica observada em plantéis. Usualmente, tumores estão presentes. Em alguns casos, a mortalidade com ou sem tumores em aves jovens tem sido reportado antes da maturidade sexual. Tumores são tipicamente mielocitomas, e podem ser observados sobre a superfície dos ossos, particularmente, junções costocondrais, costelas, esterno, vértebras, pélvis, e nos órgãos viscerais, principalmente, ovários, fígado, baço, rins, mesentério, e também, nos pulmões, traquéia e laringe. Microscopicamente, a presença de mielócitos imaturos com grânulos citoplasmáticos eosinofílicos esféricos, são considerados característicos de Leucose Mielóide (LM).

Variações no quadro clínico e patológico de casos de campo, dependem de vários fatores, tais como: - idade à infecção pelo VLA-J, composição genética da linhagem ou cruzamentos de linhagens, infecções concomitantes com agentes imunossupressores, condições ambientais, de manejo nos incubatórios e granjas e qualidade da ração.

Antibióticos não controlam a infecção viral, mas podem auxiliar em casos de infecções bacterianas secundárias.

Não existem vacinas disponíveis para o controle da infecção pelo VLA. O controle da doença tem sido baseado na eliminação de aves positivas, identificadas por testes específicos, práticas de manejo e programa de biosegurança no incubatório e na granja, com o objetivo de reduzir a disseminação do vírus e reduzir a doença clínica.

Neste texto, descrevemos resumidamente, algumas características gerais do VLA-J, agente etiológico responsável pela Leucose Mielóide e práticas de manejo, que podem ser adotadas nas granjas e no incubatório, as quais podem reduzir os riscos de transmissão do vírus, reduzindo a incidência de tumores e mortalidade.

Nomenclatura

- ♦ Leucose Mielóide (LM)
- ♦ Mielocitomatose
- ♦ Mielocitoma
- ♦ Vírus da Leucose Aviária subgrupo J (VLA-J)

Classificação dos Retrovírus

O Vírus da Leucose Aviária pertence a família *Retroviridae*. Todos os retrovírus formadores de tumores de importância veterinária estão incluídos na subfamília *Oncovirinae*. Os Retrovírus do Grupo Leucose/Sarcoma Aviária compreendem todos retrovírus (exceto o vírus da reticuloendoteliose), causando doenças tumorais em galinhas e outras espécies aviárias.

Membros do grupo Leucose/Sarcoma de Retrovírus Aviário incluindo o Vírus da Leucose Aviária (VLA) de galinhas, são classificados alfabeticamente dentro de 6 subgrupos (A, B, C, D, E e J) com base em testes de vírus neutralização, hospedeiros, características moleculares e outros critérios.

Vírus exógenos (subgrupos A, B, C, D e J) são capazes de induzir uma variedade de tumores, mas os vírus endógenos (subgrupo E) raramente são oncogênicos.

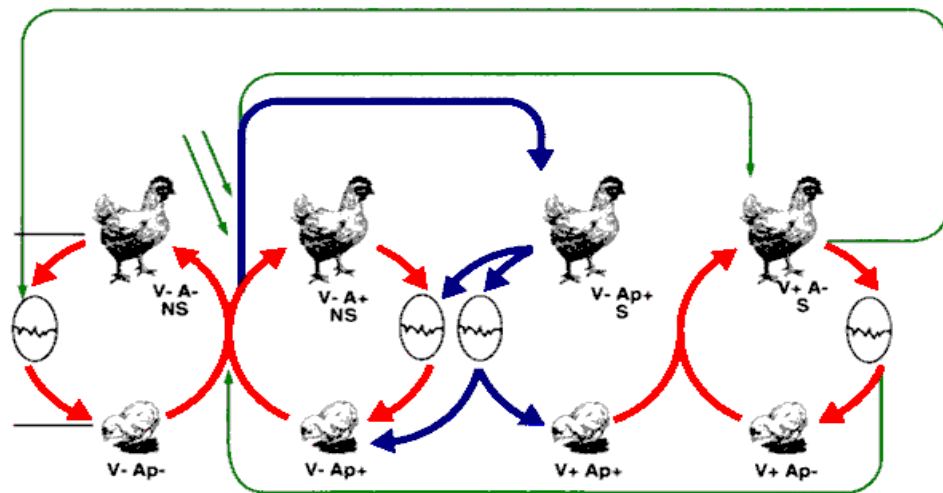
Antes do estabelecimento de um eficiente programa de controle para Leucose Aviária no final da década de 70, os subgrupos A e B foram considerados por muitos anos, os subgrupos exógenos mais comuns encontrados causando problemas em poedeiras comerciais, com formação de tumores a partir de células da bursa (Leucose Linfóide). Matrizes pesadas possuem um alto grau de resistência genética aos subgrupos A e B.

Os subgrupos C e D podem causar problemas clínicos, mas são considerados sem importância econômica e raramente são encontrados à campo. O subgrupo E compreende os vírus endógenos da Leucose Aviária, que geralmente encontram-se integrados ao genoma das células infectadas das aves, são transmitidos geneticamente e virtualmente presente em todas as aves, sendo de baixa patogenicidade.

No final da década de 80, pesquisadores do Instituto de Saúde Animal, Reino Unido, isolaram um novo subgrupo J de VLA exógenos de reprodutoras pesadas. Nos últimos dois anos, VLA-J tem sido identificado em lotes de reprodutoras pesadas e frangos de corte, demonstrando uma alta incidência de Leucose Mielóide em muitas áreas do mundo.

Características Importantes do VLA-J

- ♦ Primeiro isolamento do VLA-J em reprodutoras pesadas, no Reino Unido por PAYNE et alii (1988).
- ♦ Evidências de que VLA-J surgiu, possivelmente como resultado de uma recombinação genética entre o VLA-exógeno e sequências genéticas de gene envelope (*env*) originado de um VLA-endógeno (subgrupo E).
- ♦ VLA-J pode infectar culturas de células de outras espécies, mas não se replicam ou transformam células de mamíferos.
- ♦ Anticorpos VLA-J tem sido encontrados em várias linhagens genéticas pesadas, mas não observados em poedeiras comerciais, as quais parecem ser resistentes ao desenvolvimento de tumores, mas susceptíveis à infecção com o vírus.
- ♦ VLA-J possui alto tropismo para células da medula óssea (mielomonocíticas), portanto, causam Leucose Mielóide.
- ♦ VLA-J possui baixo tropismo para as células da bolsa de Fabrício (± Leucose Linfóide).
- ♦ Transmissão vertical e horizontal
- ♦ Imunotolerância ocorre quando há exposição muito precoce (durante desenvolvimento embrionário ou pouco após o nascimento), quando o sistema imunológico das aves ainda é muito imaturo, e não reconhecem estes antígenos como estranhos, e sim como próprios, portanto, não respondem com a produção de anticorpos.
- ♦ Aves infectadas por via vertical (albumina do ovo é contaminada no oviduto) não produzem anticorpos (são imunotolerantes), e eventualmente desenvolvem tumores e morrem.
- ♦ Aves imunotolerantes disseminam o VLA através dos ovos incubáveis e no meio ambiente.
- ♦ Diagrama da transmissão natural dos vírus exógenos da leucose linfóide



Estrutura e Genoma do VLA-J

♦ VLA-J possui três genes: *gag*, *pol* e *env*.

♦ **Gene *gag*:**

- contém a informação genética responsável pela produção de proteínas específicas de grupo = antígeno grupo específico ("gs")
- proteína conhecida como p27, comum a todos os subgrupos de retrovírus do grupo Leucose/Sarcoma aviário, que encontram-se localizadas no nucleocapsídeo do vírus.
- p27 é o antígeno detectável pelos kits comerciais para teste de ELISA-antígeno de captura.
- como "gs" é comum a todos os subgrupos, testes de ELISA atualmente disponíveis para p27, não diferencia um subgrupo do outro.
- reprodutoras pesadas são portadoras do vírus endógeno em seus cromossomos, e alguns podem conter informações genéticas necessárias para produção de p27 e outros produtos gênicos, o que pode induzir a resultados falsos positivos.

♦ **Gene *pol*:**

- codifica a informação necessária para a produção de enzima conhecida como polimerase, retrotranscriptase ou transcriptase reversa, a qual torna possível a transcrição do RNA viral a DNA antes que este último possa ser integrado ao DNA celular. Ou seja, gene *pol* produz um provírus DNA que integra-se no DNA do hospedeiro, e isto possibilita a transcrição do RNA viral, o qual

então, reproduz as proteínas virais. Estes novos vírus, são agrupados e “brotam” a partir da membrana plasmática celular.

♦ **Gene *env*:**

- envelope externo de proteína que contém informações genéticas responsáveis pela produção de proteínas envelope de superfície (envoltura do vírus). Uma delas, a gp85, é bastante distinta molecular e antigenicamente, entre os vários subgrupos do VLA. Uma sequência importante ligada ao gen *env* é a “integradora” que é responsável da integração do vírus aos receptores da célula infectada. Gen *env* é responsável pela ligação às células susceptíveis, e também induz a produção de anticorpos específicos em aves imunocompetentes.
- testes sorológicos desenvolvidos comercialmente, detectam anticorpos contra proteínas do envelope dos subgrupos mais comuns em poedeiras leves (subgrupos A e B). Antígenos de envelope dos subgrupos A e B, são sorologicamente distintos do VLA-J, portanto, não tem significado detectar anticorpos contra estes subgrupos através do teste de ELISA, pois o interesse é no VLA-J.

Epidemiologia

1 - Susceptibilidade

- Reprodutoras pesadas são mais susceptíveis para a infecção pelo VLA-J
- No início, linhas macho foram mais comumente afetadas, e a taxa de infecção era mais alta em machos.
- Atualmente, as fêmeas tem sido mais susceptíveis que os machos, e a expressão do quadro tumoral é mais alta em fêmeas.
- Estresse + imunossupressão promove a expressão tumoral e a disseminação do vírus.

2 - Mecanismos de transmissão

Genética:

Esta forma geralmente envolve vírus endógenos integrados ao genoma das células germinativas da reprodução. A divisão das células infectadas com o crescimento do embrião, dão origem a células “filhas”, que contém material genético de vírus endógeno. Parte da progênie de reprodutoras infectadas, receberá cópias de provirus infectantes já incorporados no material genético celular, como se fosse componente natural do genoma celular.

- **Congênita:**

Forma de transmissão mais comum em infecções pelos vírus exógenos. Galinhas infectadas produzem partículas virais infectantes, que são excretadas no oviduto, contaminando o albúmen do ovo (e o embrião), originando um pinto infectado ao nascimento. Mecônio de pintos de 1 dia infectados congenitamente contém altas concentrações de VLA e é uma importante fonte de vírus. Pintos infectados pela forma congênita não respondem imunologicamente ao vírus, não desenvolvem anticorpos, são permanentemente virêmicos e a maioria pode desenvolver Leucose Mielóide. As formas de transmissão genética e congênita são denominadas de transmissão vertical.

- **Horizontal:**

Geralmente ocorre entre os vírus exógenos. Entretanto, a capacidade para disseminação horizontal é muito mais eficiente e rápida no subgrupo J do que nos outros subgrupos do VLA.

O VLA-J pode estar presente nas secreções, excreções e fluídos corporais de qualquer natureza, por exemplo, secreções vaginal e cloacal, albumina do ovo, sangue, saliva, sêmen, mecônio, fezes, etc. A transmissão ocorre através do contato direto ou materiais contaminados, tais como, agulhas, bisturi, mãos de sexadores, tesouras para corte de crista, esporas, corte de unhas, debicadores, etc.

3 - Fatores que influenciam a transmissão do VLA-J:

- . Densidade de aves/m²
- . Estresse de qualquer tipo
- . Doenças imunossupressoras
 - ◇ Doença de Marek
 - ◇ Reticuloendoteliose
 - ◇ Reovírus
 - ◇ Anemia Infecciosa das Galinhas
 - ◇ Doença de Gumboro
 - ◇ Micotoxinas
- . Sobrecarga de vacinas nas fases inicial e recria
- . Práticas excessivas de manejo nas fases inicial e recria
- . Agulhas de injeções
- . Processamento das aves:
 - corte de dedos e crista
 - debicagem
 - sexagem pela cloaca
- . Restrição alimentar severa

Impacto Econômico

Sob condições de campo, parece que outras doenças e fatores ligados ao manejo, podem influenciar no impacto econômico de lotes infectados pelo VLA-J. Existem evidências de que a maioria das infecções com VLA-J tem pouco ou nenhum impacto sobre a saúde geral e produtividade do lote. Se a infecção por VLA-J influencia na produção de ovos, ainda não é bem conhecido. Entretanto, observações clínicas preliminares à nível de campo, em matrizes e frangos de corte demonstram:

1. Matrizes

- . Diagnóstico de LM em vários países
- . Redução da resposta imune
- . Mortalidade alta
- . Redução no número de ovos incubáveis/ave alojada
- . Baixa fertilidade
- . Redução no número de pintos/ave alojada
- . Aumento da conversão alimentar/dúzia ovos
- . Aumento no custo do pinto produzido
- . Desuniformidade

2. Frangos de corte

- . Problemas de uniformidade
- . Empenamento anormal
- . Mortalidade total aumentada
- . Redução na taxa de crescimento
- . Performance inadequada
- . Imunocompetência
- . Condenações no abatedouro

Métodos Diagnósticos Disponíveis para o VLA-J

1) Identificação patológica:

- Lesões macroscópicas: formações tumorais “cremosas” nas costelas, vértebras e particularmente na parte interna do esterno, e, órgãos viscerais (fígado, rins, ovários e outros órgãos)
- Histopatologia: presença de mielócitos imaturos com grânulos citoplasmáticos eosinofílicos esféricos.

2) Exame de sangue: leucemia mielocítica ou eritrocítica

3) Isolamento e identificação do vírus

- **Teste de ELISA-anticorpos**
 - * Kits comerciais de ELISA para detecção de anticorpos, detectam anticorpos somente para subgrupos A e B (parcialmente D), mas não subgrupo J.
 - * Teste específico para anticorpos subgrupo J, ainda não disponível comercialmente.
 - * Deve ser usado para monitorar lotes livres.
 - * Sem valor para erradicação: aves imunotolerantes não produzem anticorpos (Vírus (+); anticorpos (-)).
 - * Material usado no teste: soro
- **Teste de ELISA-antígeno**
 - * Kits comerciais para detecção de antígeno, detectam o antígeno específico de grupo (p27) (não é subgrupo específico)
 - * Antígeno p27 é comum a todos os subgrupos, portanto, não é possível determinar se trata efetivamente do subgrupo J (falta de especificidade de subgrupo)
 - * Pode detectar VLA do subgrupo E (endógeno)
 - * Kits comerciais para detecção de antígeno específico, ainda não disponíveis comercialmente.
 - * Materiais usados no teste: swabs cloacal ou vaginal, culturas de vírus, albúmen, mecônio, polpa pena
- **Isolamento do vírus**
 - * Teste PBM (Peripheral Blood Monocytes) + fibroblastos C/E
 - . Verificar p27 após 7 dias de inoculação
 - . permite crescimento apenas para vírus exógeno
 - * Aplicação limitada: disponibilidade comercial limitada de cultura de células (fibroblastos C/E)
 - * Vantagens: sensível e específico
 - * Desvantagens: caro e demorado para obter resultado
 - * Atualmente é o melhor teste.
 - * Materiais usados no teste: sangue, tumores, ovos
- **PCR:**
 - * Devido a possível diferença molecular entre os vários isolamentos do vírus J, o PCR não identifica todos os subtipos de VLA-J isolados no campo.
 - * Vantagens: resultados rápidos e os positivos são precisos
 - * Desvantagens: caro e os negativos não são precisos devido a muitos subtipos virais diferentes.
 - * Materiais usados no teste: cultura vírus, tumores, vacinas, etc.

4) Diagnóstico diferencial

- Leucose linfóide
- Doença de Marek
- Reticuloendoteliose

Programa de Controle e Erradicação do VLA-J

1. Objetivos principais dos programas de controle e erradicação do VLA-J.

- reduzir a transmissão vertical.
- minimizar o risco de transmissão horizontal.
- erradicação do VLA - J deve começar no “topo da pirâmide” (linhas puras)
- seleção de aves geneticamente resistentes ao VLA - J.

2. Fatores que interferem com o sucesso dos programas de erradicação do VLA-J

- Falta de testes específicos de antígenos e anticorpos para VLA-J.
- Falta de testes rápidos de diagnóstico, que permitem a eliminação de lotes infectados antes da disseminação do vírus.
- Limitações de disponibilidade comercial de células especiais, fibroblastos de embriões de galinhas, susceptível somente aos vírus exógenos. (células C/E)
- Variação antigênica e molecular entre os tipos de VLA-J: novos tipos dentro do subgrupo J, ou novos subgrupos de VLA como resultado da recombinação viral.
- Pouco conhecimento básico sobre a caracterização biológica e molecular, e dos aspectos epidemiológicos do VLA-J.
- Papel da transmissão horizontal na disseminação do VLA-J.

3. Controle da disseminação do vírus

- Galinhas que transmitem VLA-J à sua progênie eliminam grandes quantidades de vírus e de antígenos específicos de grupo viral na albumina do ovo e podem ser identificadas pela prova de antígeno ELISA de VLA em swabs vaginais ou na albumina do ovo.
- Identificação e eliminação de galinhas infectadas é a base dos esquemas de controle, objetivando reduzir os riscos de transmissão vertical e horizontal do vírus.
- Biosegurança nas granjas e incubatórios é de suma importância.

4. Controle do meio ambiente

- **Reduzir qualquer tipo de estresse**

- . alta densidade aves/m²
- . manuseio excessivo das aves
- . debicagem incorreta
- . espaço insuficiente de comedouro/bebedouro
- . taxas inadequadas na relação macho : fêmea
- . vacinas imunossupressivas
- . sobrecarga de vacinas
- . doenças imunossupressivas concomitantes
- . boa qualidade dos ingredientes da ração (ausência de micotoxinas)
- . deficiência ou desequilíbrio nutricional
- . restrição alimentar
- . estresse calórico

- **Persistência do vírus no meio ambiente**

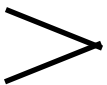
Ainda, não se conhece bem sobre a persistência do subgrupo J no meio ambiente, entretanto, os retrovírus aviários em geral, não sobrevivem muito tempo no meio ambiente. À 37°C, a vida média do vírus é de 260 minutos. Calor ou mudanças no pH diminuem significativamente o tempo de inativação do vírus.

- **Sensibilidade do vírus a desinfetantes**

Devido o retrovírus aviário possuir cobertura de uma membrana contendo muita gordura, eles são muito sensíveis a maioria dos detergentes e desinfetantes. A limpeza com água e sabão seguida pela aplicação de um desinfetante, deve neutralizar o vírus.

5. Critérios adotados para implantação do programa de controle do VLA-J

- Separação de populações em grupos.

- ⇒ Pedigree
 - ⇒ Bisavós
 - ⇒ Avós
 - ⇒ Matrizes: machos e fêmeas.
- 
- Linhas A, B, C e D**

- Programa de testes para identificar e eliminar aves positivas.
- Medidas de controle á nível de incubatório.
- Medidas de controle á nível de granjas.

6. Procedimentos para redução dos riscos de transmissão do VLA-J á nível de Incubatório de pintos matrizes

- Incubação e eclosão entre linhas macho e fêmea, em máquinas separadas.
- Incubação e eclosão entre linhagens diferentes, em máquinas separadas e dias de nascimentos diferentes.
- Limpeza e desinfecção frequente de todas as esteiras de pintinhos a cada lote, e entre diferentes linhas e linhagens.
- Trocar a “cama” das rodas de vacinação a cada lote, e entre diferentes linhas e linhagens .
- Trocar com frequência as agulhas das vacinadoras, entre grupos de aves.
- Retirar pintinhos dos nascedouros em caixas lavadas e desinfetadas, com cama nova, e não reutilizar caixas plásticas ou de papelão para o acondicionamento dos pintos.
- Funcionários responsáveis pelo corte de unhas, crista e esporas dos machos, devem lavar as mãos com sabão a cada lote de machos.
- Funcionários da seleção e vacinação, devem lavar as mãos com sabão a cada lote.
- Sexadores devem lavar e desinfetar as mãos após a sexagem de cada lote.
- Não reutilizar caixas de pintinhos (plástica ou de papelão) entre lotes, após a sexagem.
- Lavar com detergente e desinfetar todos os equipamentos, esteiras, máquinas, pisos, etc a cada jornada de trabalho.
- Utilizar os desinfetantes estáveis nas concentrações recomendadas pelos Laboratórios.

7. Procedimentos para redução dos riscos de transmissão do VLA - J à nível de Incubatório de pintos comerciais

- Incubação e eclosão de ovos provenientes de diferentes fornecedores em máquinas separadas, e dias de nascimentos diferentes.
- Limpeza e desinfecção frequente de todas as esteiras de pintinhos.
- Trocar com frequência a “cama” das rodas de vacinação e sexagem.
- Trocar com frequência as agulhas das vacinadoras entre grupos de aves.
- Não reutilizar caixas plásticas ou de papelão para acondicionamento de pintos.
- Funcionários da seleção, vacinação e sexagem, devem higienizar frequentemente as mãos.
- Lavar com detergente e desinfetar todos os equipamentos, esteiras, máquinas, pisos, etc a cada jornada de trabalho.
- Utilizar os desinfetantes de acordo com as orientações recomendadas pelos Laboratórios.

8. Procedimentos de manejo para reduzir os riscos de transmissão do VLA-J à nível de granjas

- ◆ Estresse é a principal causa de imunossupressão, interferindo na performance e aumentando a susceptibilidade à doenças.
 - Dentre os fatores críticos podemos destacar:
 - temperatura na fase inicial
 - densidade do lote
 - espaço de comedouro/bebedouro
 - qualidade da ração
 - sobrecarga de vacinas
 - enfermidades concomitantes
 - debicagem excessiva
 - manejo excessivo nas fases inicial e recria
- ◆ Limpeza e desinfecção do galpão e equipamentos entre alojamentos.
- ◆ Não alojar pintos de diferentes origens no mesmo galpão.
- ◆ Não reutilizar cama.
- ◆ Vazio sanitário de 10 a 14 dias.
- ◆ Reduzir ou adiar os desafios de vacinas vivas, tanto quanto possível.
- ◆ Assegurar imunidade materna adequada (reduz a necessidade de vacinação precoce)
- ◆ Separação de machos e fêmeas durante a fase de recria até o acasalamento (22 semanas de idade).
- ◆ Controle do peso corporal do lote.
- ◆ Suplementação de vitaminas lipossolúveis, particularmente vitamina E, (100 a 300 UI/kg) especialmente nas primeiras semanas de vida do lote. Vitamina E participa no desenvolvimento do sistema imunológico e melhora a imunocompetência.
- ◆ Melhorar ração (vitaminas e minerais) durante os períodos de estresse (por exemplo: vacinações)
- ◆ Relação adequada de macho: fêmea. Excesso de machos em relação às fêmeas, pode causar estresse por agressão, pela competição por espaço limitado de comedouro, uma vez que, os machos geralmente são aves dominantes.

- ◆ Agulhas e estiletos (punção da membrana da asa) devem ser trocados frequentemente entre grupos nas vacinações, para prevenir contaminação e transmissão do vírus. Nas coletas de amostras de sangue para monitoria sorológica, as agulhas devem ser trocadas a cada ave.
- ◆ Evitar debicagem excessiva.
- ◆ Eliminar todas as aves que apresentem algum sintoma de doença.

9. Desafios de doenças e medidas preventivas

Alguns agentes isolados ou combinados podem causar lesões precoces no sistema imunológico das aves, e contribuir para o aumento da susceptibilidade e severidade das infecções pelo VLA-J. O alojamento de pintos de 1 dia de idade em galpões contaminados (por exemplo: cama do galpão), ou em granjas de idades múltiplas, resultará em exposição precoce e desafio à vários patógenos, o que contribuirá para exacerbar os efeitos da exposição e aumentar a disseminação horizontal do VLA-J.

Leucose Mielóide é mais prevalente em lotes onde o controle da Doença de Marek tem falhado, devido à exposição precoce para o desafio de campo e/ou desafio aos patótipos imunossupressivos altamente virulentos do vírus de Marek.

Enquanto não há muitas informações sobre o subgrupo J, sabe-se que, com outros retrovírus aviários, vacinas de Marek sorotipo 2 (SB1) podem exacerbar manifestações clínicas. Por esta razão, deve-se considerar o uso dos sorotipo 1 (Rispen) e 3 (HVT) nos programas de vacinação de Marek, em conjunto com medidas rigorosas de limpeza e desinfecções nas granjas.

Outros agentes de doenças imunossupressoras, podem comprometer a capacidade para resposta imune adequada para o desafio do VLA-J, sendo portanto importante:

- assegurar imunidade materna adequada
- reduzir ou retardar desafio precoce de campo através das práticas de biosegurança
- vacinação apropriada e na idade adequada, começando com vacinas intermediárias antes de se usar produtos que provoquem reações severas.
- evitar excesso de vacinas no 1º dia de idade, as quais podem diminuir a eficácia da vacinação de Marek (combinação com Reovirus, Bouda e Gumboro).
- assegurar controle adequado de coccidiose e outras infecções parasitárias.
- monitorar e manter a qualidade da ração.

Considerações finais

“O vírus da Leucose Aviária subgrupo J é apenas um outro em uma longa lista de desafios que a Indústria Avícola tem enfrentado ao longo dos anos. Novas técnicas e testes de diagnósticos estão sendo desenvolvidos, as quais permitirão no futuro a erradicação deste vírus”.

Referências Bibliográficas

- * Podem ser obtidas pelo contato com Paulo Lourenço da Silva
Av. dos Eucaliptos, 800 - Jardim Patrícia
Uberlândia (MG)
CEP38409-970

IN OVO TECHNOLOGY

C.J. Williams, Ph.D., M.S.

Embrex, Inc.

Introduction

Egg injection technology advanced from the research laboratories of the US Department of Agriculture to the North American poultry industry with the development of Embrex's Inovoject® egg injection system. Following its inception in 1993, the commercial application of Marek's disease vaccine *in ovo* has grown to encompass over 80% of North American broiler chickens, representing over 7 billion eggs annually. Additionally, the system's commercialization has been initiated in 25 countries world-wide, with more than 375 individual machines in operation. The success of the Inovoject® system is due to many factors; however, two basic principles drive the technology. One, the Inovoject® system serves to deliver to the commercial broiler egg biologically active vaccines and other injectable compounds at the earliest possible time of embryonic development, thereby preparing the chick "immunologically" prior to hatching for the grow-out period. Two, the application is a mass application on an individual dosage basis, allowing for uniform application at a rapid rate. From these two basic principles, the application of the technology has grown and expanded throughout the global commercial poultry industry. Embrex currently has over 30 patents in the US and 50 different foreign patents either issued or pending, defending and defining concepts related to *in ovo* delivery, compounds, and related technology. Our goal continues to be to develop the technology of embryonic application via egg injection, as well as to broaden the scope of hatchery-applied technology.

Technology Package Inovoject® Egg Injection System-

The current Inovoject® system consists of two separate pieces of equipment with seven primary systems. The two pieces of equipment, an injection unit and a vacuum transfer unit, generally work together; however, under certain circumstances, only the injection device is used. Embrex, Inc. has designed and built over 25 different types of Inovoject® systems, with each type varying according to the specific incubator flat design. Although the injection process is the same regardless of Inovoject® type, the different designs are required to accommodate all major incubator egg flat manufacturers. The equipment is designed to operate anywhere in the world, as long as there is compressed air and electrical power.

The first of the seven systems is the conveying system, which carries the flats of incubated eggs to various positions along the Inovoject®. Different speeds are used to maintain or cause separation of individual flats, and photo-

electric sensors or “eyes” are used to verify positions of the flats for injection or transfer.

The second system is the sterilization system used in conjunction with the vaccine delivery system. This is an automated pumping system that cleans and sterilizes the vaccine delivery before and after each daily use and prepares the system for storage. Separate chlorine detergent and chlorine-based sanitizers are used to automatically clean and disinfect the interior of the tubing and manifold system and fill the system with isopropyl alcohol for storage.

The third system is the injection head. The up and down motion of the head is created by two air cylinders, which support the head from below. Each egg is located (positioned) within the incubation flat by individual injection devices. Once the eggs are located, the injection devices are held in place with inflated tubes within the injection head, and the holes are punched into the egg shells simultaneously. Needles are then pneumatically individually driven into the egg to a depth of one inch, or 2.5 centimeters. Vaccine is delivered, and the process is reversed. Sanitation of each individual needle and punch takes place between every injection cycle while the next flat of eggs is located under the injection head.

The fourth system is the vaccine delivery system. The pump is an air-driven peristaltic pump, which accurately dispenses predetermined volumes of 50 or 100 micro liters to each egg. The manifold design permits each needle to receive vaccine accurately, and allows for simplistic cleaning and maintenance. The system is a closed, one-way system and utilizes intravenous-type bags for optimal maintenance of vaccine sterility.

The fifth system is the needle/punch sanitation system. Again, utilizing an air-driven peristaltic pump, a chlorine-based sanitizer is delivered every injection cycle to the top of each individual injector, just below the needle attachment. Manifolds and air pressure drive 300-400 micro liters of sanitation fluid down the interior of injection tooling, reaching each punch after each injection cycle, just prior to the next cycle. There are 4 small holes just prior to the end of each punch, which allow the sanitation fluid to bathe the exterior of the tip of the punch. The outside of the injection needle is bathed with sanitation fluid along the complete length of the needle, from the attachment hub to the needle tip.

The sixth system is the vacuum transfer system. Following egg injection, the eggs traverse the length of the machine and are located beneath the vacuum transfer head. The eggs are automatically picked up out of the incubation flats, and a single operator can then locate a hatching basket beneath the head. The same operator then removes the empty incubation flats, stores them accordingly, and removes the full hatching basket for placement in the hatching compartment. The vacuum head assembly is easily removed after each run day, and placed in a specially designed unit for cleaning and disinfection.

The seventh system is the electrical system. Per design, the electrical portion of the Inovoject® system not only controls the pneumatics and conveying systems, but contains a computer program to monitor the on-going performance of the whole system. Critical control points, such as the vaccine and sanitation pump, are continuously monitored for volume levels or proper flow, as well as the timing of their respective delivery. Any dysfunction of any critical control

point in the process results in the immediate stoppage of the equipment. The reason for the stoppage is then displayed for the operator via an equipment computer interface for easy identification and correction. The equipment/operator interface is currently available in many languages, including English, Spanish, French, Portuguese, Japanese, and Chinese.

With respect to sanitation, the Inovoject® system is designed for complete exterior wash down and cleaning, and standard procedures are performed daily. Set-up requires approximately 20 minutes, and shut-down approximately 30 minutes, including sterilization of the vaccine delivery system.

Customer Support - Field Service Organization

Inovoject® equipment and system is currently leased and rented to US customers on a per egg injected basis. This allows for several short term and long term benefits to the user. There is relatively little up front expense involved with receiving the equipment and incorporating it into the hatchery. Additionally, all consumable items, such as needles and tubing, are usually supplied at no cost to the user by Embrex. Embrex currently provides to all hatcheries using the Inovoject® system preventative maintenance service by certified equipment technicians, involving on-site visits every 2-3 months. Specific service and support programs are designed and tailored for each new market that Embrex enters based upon the model developed for Field Operations currently in the US. In addition to periodic equipment service, biological process audits are performed annually, or upon an as needed or requested basis. Trouble shooting equipment and process issues carry high priorities within our global customer service organizations.

Prior to the incorporation of the Inovoject® system into a hatchery, a standardized microbial survey is performed, as well as a physical site survey. The details of these surveys are critical to the smooth incorporation of the technology into each individual hatchery, regardless of the location.

The initial incorporation of the equipment into a hatchery involves extensive training on equipment function and details of operation for approximately two weeks of operation. This includes, but is not limited to, daily aspects of pre and post injection sanitation procedures, actual injection of eggs and operation of equipment, aseptic preparation of vaccine, quality control procedures during daily operations, analysis of hatchability, including egg necropsy of unhatched residue, hatchery environmental monitoring specific to *in ovo* processes, and routine equipment maintenance.

Technical Process-

As mentioned previously, the designs of the Inovoject® include over 25 different incubation flat configurations, and accordingly, the speed at which the eggs are injected will vary according to the specific design. Current models will inject and transfer between 20,000 and 50,000 eggs per hour. Normally, two operators can accommodate equipment with rates of up to 35,000 eggs per hour. Inovoject® systems that have capacities greater than 40,000 eggs per hour utilize a third operator to remove empty incubation flats after transfer.

Additionally, a vaccine preparation person is often utilized in the US, and normally serves as an operational monitor and coordinator.

Sterile vaccine preparation is critical to the performance of egg injection. Proper location of a designated vaccine preparation room facilitates sterile preparation by reducing the environmental microbial challenges. Specific step-wise procedures during the preparation of vaccines must be followed in order to eliminate the possibilities of vaccine contamination. Antibiotics are routinely used to ensure sterile preparation of vaccines; however, good aseptic technique is mandatory, and antibiotics are not necessarily required. Sterile intravenous bags are utilized in order to keep the delivery system closed. Airborne contamination introduced through the air ports required with glass bottled delivery systems was shown to be transferable to the embryo. Therefore, glass bottles are not recommended for use with egg injection.

Our experience with egg injection has revealed several hatchery specific issues that must be evaluated prior to egg injection in order to maximize performance of equipment in the hatchery, as well as to maximize the benefits to chick performance during the grow out period. For example: a complex multi-factor variable such as relative water loss during incubation requires evaluation of transfer/injection day relative to embryo age, incubator type and temperature/humidity settings, length of egg storage, age of breeder flock, etc. Examination of environmental levels of bacteria and molds throughout the hatchery also include examination of the season of the year, location and age of hatchery, quality of breeder flocks, type of disinfectants used, type of air handling units, etc.

With respect to water loss, the preferred time or "window" for safely injecting the egg is between day 17 and 12 hours of incubation to day 19 and 2 hours of incubation, with time "zero" being normal set time. Egg injection on "day 17" has been shown to reduce hatchability, when compared to injection on "day 18", by up to 2.5% (Table 1). It should be noted that differences in day of transfer without *in ovo* vaccination (day 17 versus day 18) has also been shown to reduce hatchability (Table 2). Presumably, differences in hatchability are due to the relative difference in air flow from the incubator to the hatcher and accompanying reduction in water loss, higher humidity, and less available oxygen. The air flow differences and resulting water loss, humidity, and available oxygen are no different for eggs that have been injected. Additional difference may be due to the hole in the blunt end of the egg. We know that the 16 gauge punch hole represents an additional 25-30% increase in the relative pore volume of the egg. This can be seen as an advantage, physiologically, to respiration and gas exchange of the embryo during late term development, especially in those eggs from older breeder flocks. However, it may also be seen as a disadvantage (too invasive) if done too early ("day 17") and microbial challenge during the hatching process is excessive.

Table 1 - Evaluation of Embryonic Age at INOVOJECT® Vaccination Based on Data Collected from a Commercial Hatchery During a Four Month Period.

Flock Age	Stage at Transfer (Days)	# Eggs	# Sellable Chicks	% Total Hatch	% Cull	% Net
< 31 Weeks	17	422,676	342,784	82.82	1.75	81.10
	18	421,668	351,546	84.64	1.27	83.37
31 – 49 Weeks	17	2,276,424	1,923,148	85.79	1.31	84.48
	18	2,454,048	2,112,552	87.17	1.08	86.08
> 49 Weeks	17	1,270,116	903,824	72.63	1.47	71.16
	18	1,227,708	907,155	75.09	1.20	73.89

Table 2 - Comparison of non-injected and injected eggs from commercial trials with respect to different breeder flock ages and day of transfer/injection.

FLOCK AGE	DOT	TRT	# CHICKS	% HATCH OF TOTAL	% HATCH OF LIVE
< 31 Weeks	17	C	3,056	81.62	98.04
		I	3,101	82.83	97.52
	18	C	5,849	84.62	98.30
		I	5,957	86.18	98.51
31-49 Weeks	17	C	30,240	88.24	98.56
		I	30,056	87.70	98.45
	18	C	20,069	89.34	98.62
		I	19,956	88.84	98.61
> = 50 Weeks	17	C	5,243	79.15	97.91
		I	5,243	79.15	97.82
	18	C	8,697	83.88	98.23
		I	8,701	83.92	98.51
All Flocks	17	C	38,539	86.33	98.43
		I	38,400	86.02	98.29
	18	C	34,615	87.09	98.47
		I	34,614	87.09	98.56

The differences between egg injection on day 17 and day 18 have been shown to be much more of an issue with eggs from younger and older breeder flocks and certain incubator types with respect to temperature and humidity settings. Different incubator types show different water loss characteristics resulting in different stages of embryonic development at the same chronological incubation point. Optimal timing for egg injection is much more dependent on the physiological characteristics of the embryo than on actual incubation time. In general, multi-age tunnel incubation systems generate greater water loss during incubation than the multi-age walk-in type incubation systems. This means that the embryos are better suited for egg injection earlier when they are incubated in a tunnel incubation system versus a walk-in type incubator. Minor adjustments can easily be made to compensate for some of these differences in order to accommodate certain hatchery schedules and egg injection timing.

Similar developmental/chronological issues are present with respect to eggs containing embryos that have pipped through the shell. Although the injection per se is controlled, the vacuum transfer process is hindered by the presence of multiple holes in the egg. Pipped eggs do not vacuum transfer very well, and are frequently dropped. Cracking above the air cell membrane during late stage (day

19) transfer/injection does not necessarily affect the ability of the embryo to hatch; however, eggs cracked below the air cell membrane, on the small end or sides, generally trap the embryo in the shell. We recommend that eggs injected on day 19 of incubation contain less than 1% pipped eggs.

The microbiological environment of the hatchery is monitored prior to the installation of egg injection equipment, with the primary focus being the air handling systems, the hatchers, and hatcher hallways; and the primary concern being relative levels of *Aspergillus* and blue-green molds. We know from experience that certain fungal spores or conidia, if present in sufficient numbers in the hatching environment, can be blown in through the punch hole after egg injection. Of primary concern are the *Aspergillus* species, as the conidia can proliferate on the air cell membrane, typically of infertile and early dead embryonated eggs. This proliferation represents an additional pool of *Aspergillus* conidia that can further challenge the hatching chick. Without proper identification and control measures, the *Aspergillus* challenge can continue to grow over time, such that the hatching chicks can be severely effected (aspergillosis).

Table 3 is a summary of the microbial evaluations performed prior to the installation of Inovoject® systems at 250 hatcheries in North America. These results represent over 20,000 individual samples taken over a period of approximately 6 years. *Aspergillus* species were identified in over 75% of the hatcheries sampled, with approximately 20% of the hatcheries having an inherent risk of a fungal bloom if egg injection was immediately incorporated. Further sanitation and bio-security measures as well as re-evaluations were made prior to beginning egg injection at these hatcheries. All of these hatcheries currently use our technology. All of these hatcheries currently monitor their unhatched eggs after hatch for the presence of mold, typically on a weekly basis, including samples from all breeder flocks incubated at least twice a month.

Table 3 – Percentage of 250 commercial hatcheries with *Aspergillus* contamination¹

Level of <i>Aspergillus</i> ²	Hatchers	Hatcher ventilation	Hatcher hall	General ventilation	Incubators (setters)	Miscellaneous ³
			(%)			
None	63	56	46	68	45	53
Low	23	18	27	15	30	28
Moderate	6	10	8	7	10	10
High	8	16	19	10	15	9

¹ Data from Williams et al., 1994, King, 1995. This represents over 20,000 samples, including 10-minute air plates or direct surface swabs.

² Low levels = 1-3 colonies per plate

Moderate levels = 4-10 colonies per plate

High levels = >10 colonies per plate.

Note: Mold survey results were obtained prior to INOVOJECT® placement between June, 1991 and June, 1997

³ Egg room, vaccine prep, roof, etc.

There are physical as well as microbial issues that all hatcheries and hatchery management need to be aware of prior to injecting eggs. These issues can be managed, monitored, and controlled so as to maximize the attainable benefits of *in ovo* technology.

Injectables

Vaccines-

The injection of certain vaccines *in ovo* is unsafe for the embryo, and may cause slight to severe depressions in hatchability, immunosuppression, poor field performance, or the combination of all of the above. Obviously, vaccines delivered by the *in ovo* route of administration must be both safe for the developing embryo and efficacious with respect to protection against subsequent disease challenge. Additionally, vaccines delivered in combination with other vaccines must not affect relative efficacy of each vaccine delivered. We know from experience that some tenosynovitis (reovirus), Newcastle, infectious bursal, and infectious bronchitis vaccines not designed for *in ovo* usage can result in embryonic mortality and morbidity. We also know that the relative efficacy of certain vaccines is dependant upon the actual site of injection within the various embryonic compartments. The site of vaccine dispense *in ovo* through the Inovoject® system varies with respect to the relative age of the embryo (day of incubation), the age of the parent flock, and the specific breed involved. In general, vaccination prior to day 18-18.5 results in vaccine delivery into the amniotic fluid, while vaccination later delivers a greater number of injections into the embryo proper. These injections are typically located in the area of the right breast.

Vaccines currently licensed for use *in ovo* by the USDA (APHIS) include cell-associated Marek's vaccine of serotype 1 (strain CVI-988, "Rispen's"), serotype 2 (strain SB-1), and serotype 3 (HVT, strain FC-126) and their respective combinations. Additionally, some infectious bursal disease vaccines have been approved for use *in ovo*, including the antibody-virus complex vaccine containing the intermediate (+) IBD strain 2512 and the "naked" virus vaccine in combination with serotype 2 and 3 cell-associated Marek's vaccine containing the mild IBD strain ST-14.

Other vaccines that are currently in the licensing process include certain Newcastle's Disease virus vaccines and turkey rhino-tracheitis. Other vaccines in various stages of development, field testing, and use include pox, reovirus, infectious bronchitis, coccidia, and various vector type vaccines.

Other Injectables

A review of the current literature reveals an abundance of reference to the application of different vitamins, minerals, and other compounds *in ovo*, with varying degrees of measurable success. There is virtually no vitamin or mineral solution being applied on a commercial basis through the Inovoject® system at the present time. Perhaps the focus of the supplementation of the vitamins and minerals remains at the parent bird level, where the application can address the nutrient demands during the whole developmental period of the embryo. Other compounds, such as thyrotrophin releasing hormone and certain lymphokines,

show promise when tailored to specific species or flock needs, but have not seen wide-spread commercial use.

As mentioned previously, antibiotics are routinely used to ensure sterile vaccine preparation, however, their use can also be therapeutic. Sarafloxacin, a quinolone, is currently licensed for use *in ovo* in the US. Other antibiotics used in conjunction with Marek's vaccination include gentamycin, cephalosporin (cetiofur), and penicillin. Additionally, outside the US, antibiotic therapy includes *in ovo* application of enrofloxacin. Certain antibiotics have been shown to be detrimental to late stage chicken embryos, and should not be applied. These include tylosin and the long acting tetracycline. It should be noted that the formulations for these antibiotics is important; *in ovo* use is generally limited to antibiotics designated for injection into day old chicks.

The addition of certain antibiotics to cell associated Marek's vaccine can be detrimental to the integrity of the chick lymphoblast cells (cell culture) supporting the Marek's virus. The damage to the cell's integrity has primarily been associated with pH of the resultant vaccine-antibiotic mix, and this subsequently affects the quality of the Marek's vaccine as measured by the level of viral plaque forming unit (pfu). Again, as with certain vaccine mixtures, the resultant combination of vaccines and injectable compounds should not affect their relative efficacies.

Field Results

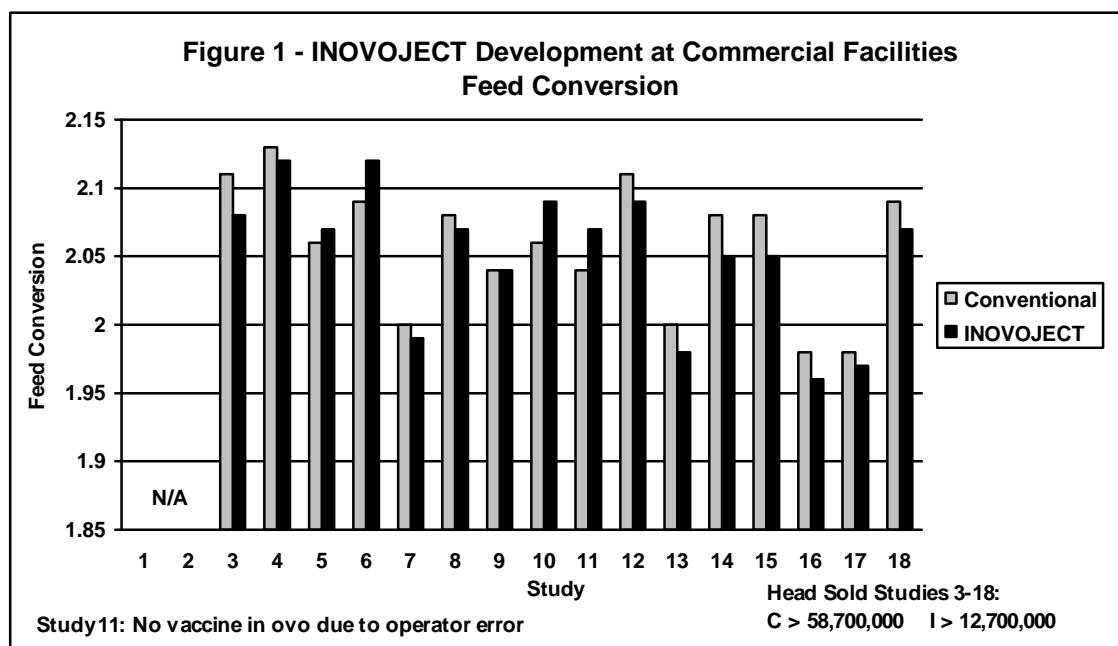
Marek's Disease Vaccination - *In Ovo* versus Sub-cutaneous at Day of Hatch

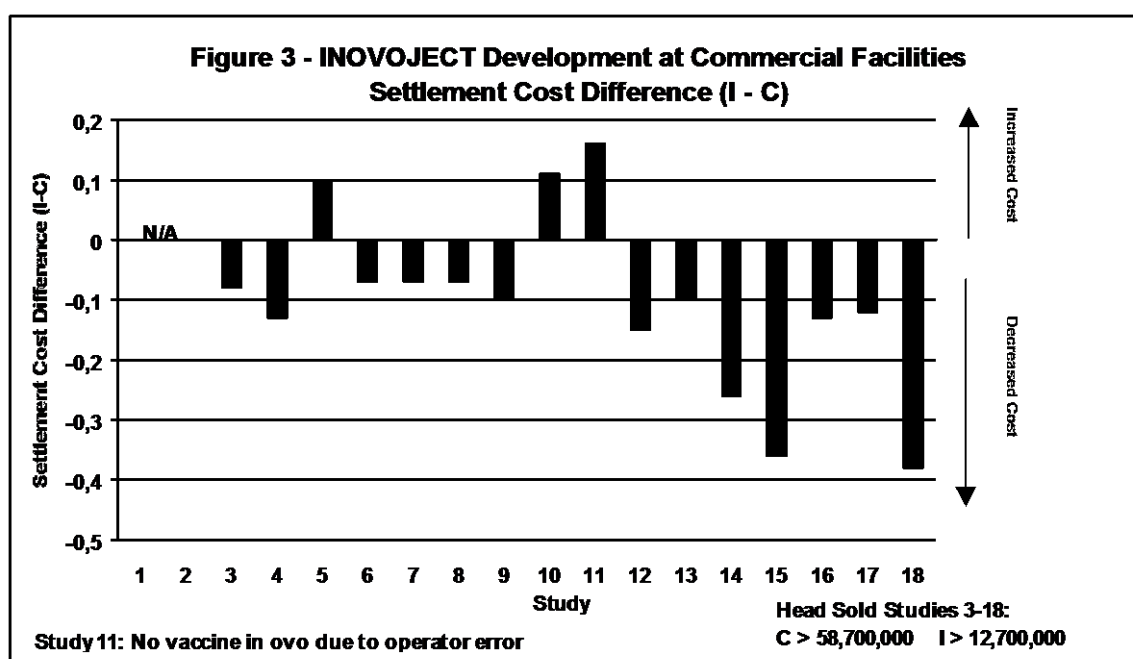
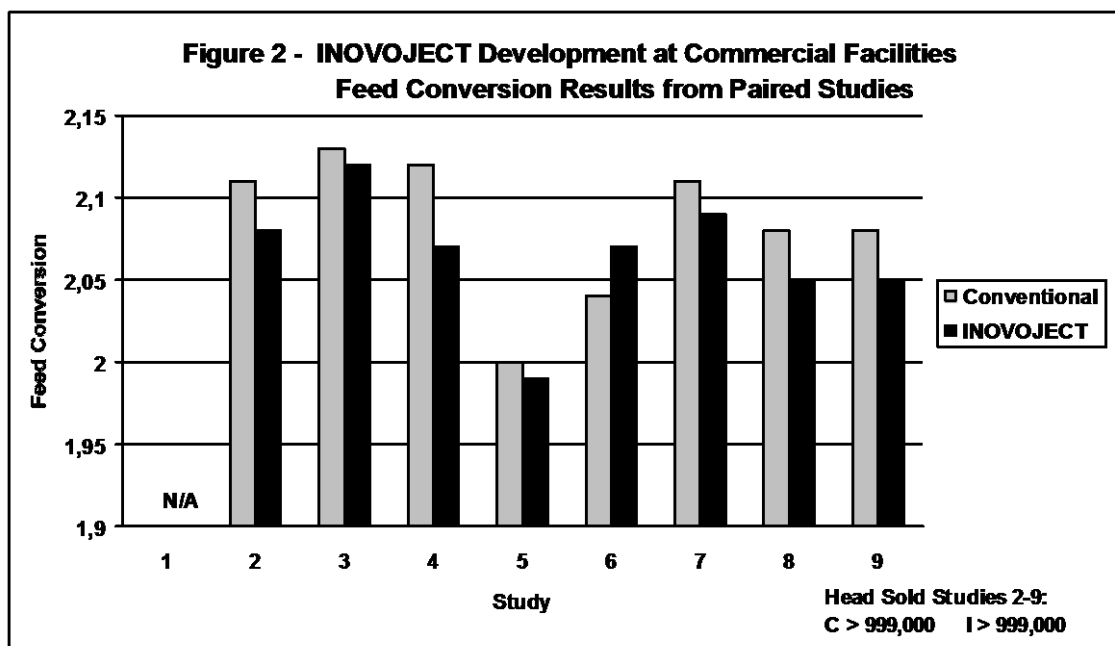
During the development of the current Inovoject® system, extensive comparative field trials were completed comparing the various prototype Inovoject® systems to conventional subcutaneous application of Marek's disease vaccine. These trials were completed at various times during 1989-1994 at four leading US integrated poultry companies. These trials were instrumental in the decision making processes of the respective companies, with each opting to incorporate embryonic vaccination into their respective programs. Since these initial trials, controlled comparative trials and data collection have been limited in scope and number with respect to the application of Marek's disease vaccines. Recent issues concerning the incidence of leukosis complex involving the J-virus, as well as the general lack of more current comparative data, calls for further controlled field-type evaluations. As the expansion of embryonic vaccination takes place on a world-wide scale, there are more and more circumstances where controlled evaluations will be performed. With the development of more and more vaccines for application *in ovo*, the need for these comparative data is crucial in order to further understand the effects of embryonic immune stimulation and the ability to tailor vaccination programs to specific customer and regional needs.

Trials reviewed herein include both strictly paired studies involving equal representation of eggs from breeder flocks and side by side grow out on the same broiler farm, as well as half-hatchery and week-on, week-off comparative

trials. These trials, as mentioned previously, were completed during the development of the current Inovoject® system, and are dated 4 or more years ago. In general, hatchability is equal, whether the eggs were vaccinated *in ovo* or not (Tables 2, 4, and 5). There are specific incidences where *in ovo* application can result in increased hatchability, as well as the reverse. These differences can be directly correlated to the quality of the eggs being injected and the hatchery environment, both positive and negative. Similarly, early mortality and final grow out livability at the time of processing are similar between *in ovo* treated birds and those given Marek's vaccinations at day of hatch.

Observations with respect to feed conversion and total settlement costs are, with few exceptions, improved by the application of Marek's vaccine *in ovo* when compared to sub-cutaneous application at day of hatch (Figures 1, 2, and 3). The cause of the improved grow out performance due to *in ovo* application is not well understood; however, these improvements would be expected because the immune response begins earlier in the embryonically vaccinated broilers. A survey of industry veterinarians recently conducted by Embrex, Inc. revealed that the grow out performance of Inovoject® vaccinated broilers as measured by feed conversion was equal to or better than performance of traditionally vaccinated (sub-cutaneous) birds. These differences may also be due to a reduction in the number of missed vaccinations, therapeutic effects of antibiotics during the hatching process, the elimination of considerable stress due to the sub-cutaneous vaccination procedure, and the reduction in time required for chick processing and delivery to the grow out farms.





Similarly, the incidence of total condemnations was reduced in the embryonically vaccinated groups (Table 4). The causes of the reduced condemnation levels, primarily attributed to lower incidences of air sacculitis and toxemia/septicemia, are not well understood. However, these differences can, in general, be attributed to the above mentioned observations with respect to early immune stimulation/function, reduced handling stress after hatch, earlier placement, and therapeutics.

Table 4 - Live Production Performance Variable

	Marek's Vaccination Treatment Group	
	Conventional	INOVOJECT®
Hatchability (%)	86.80	86.84
Chicks Hatched	1,142,529	1,141,993
Eggs Incubated	1,316,328	1,315,056
Two-Week Mortality (%)	1.54	1.60
Chicks Died	15,443	16,132
Chicks Placed	1,005,340	1,008,400
Growout Livability (%)	96.67	96.67
Broilers Grown	1,104,672	1,106,629
Chicks Placed	1,142,690	1,144,750
Average Body Weight (lbs)	4.62	4.64
Live Weight (lbs)	5,107,983	5,122,434
Broilers Grown	1,104,777	1,104,644
Feed Conversion	2.095	2.076
Feed Consumed (lbs)	9,258,933	9,230,690
Live Weight (lbs)	4,419,261	4,447,319
Settlement Cost (Company A)	19.18	18.97
Settlement Cost (Company B)	16.41	16.31
Leukosis Condemns (%)	0.02	0.01
Carcasses Condemned	155	112
Broilers Grown	953,260	1,057,509
Total Condemned (%)	0.64	0.61
Carcasses Condemned	6,119	6,414
Broilers Grown	953,260	1,057,509

Table 5 - Summary¹ of three field trials of MD vaccine — Performance data of INOVOJECT® treated chicks compared to subcutaneously vaccinated controls

Live Production Performance Variables	Marek's Vaccination Treatment Group	
	Subcutaneous	INOVOJECT®
Overall Hatchability (%)	85.80	85.23
One-Week Mortality (%)	1.34	0.88
Two-Week Mortality (%)	1.68	1.18
Final Mortality (%)	3.74	2.86

¹Data from Sarma *et al.*, 1995; 62,600 chicks per treatment.

Infectious Bursal Disease

Data presented herein encompasses evaluations completed involving sixteen separate field trials comparing a total of 43.6 million broilers vaccinated once with the antibody-virus complex IBD vaccine to 36.1 million broilers vaccinated with various other IBD vaccines (Tables 6a and 6b). Trials were completed encompassing many different breeds, across numerous regions in the US, and under different management regimes. Specific trials were completed comparing a single dose of the antibody-virus complex vaccine with those of various multiple doses IBD vaccination programs throughout the US poultry industry. Additionally, the control treatments in some trials (Trials 6, 7, and 9, representing an additional 10.2 million birds) received no bursal vaccine. All of the birds in both respective treatment groups were given Marek's disease vaccination via the *in ovo* route.

Table 6 a - Production Values from Controlled Trials using the Live IBD Vaccine Bursaplex™ in Commercial Broiler Chickens.

#	Vacc. ¹ Treat.	# Birds	% Live	Ave. Wt.	FCR ²	Ave Age	% Cond	SC ³
1	Bursaplex	5.6 M	93.7	5.36	2.185	53.0	0.81	19.41
	Control	2.8 M	93.3	5.29	2.212	53.0	1.04	19.66
2	Bursaplex	2.1 M	95.6	4.84	1.974	47.4	2.22	20.57
	Control	2.4 M	95.9	4.83	2.001	47.4	2.33	20.84
3	Bursaplex	3.9 M	95.1	4.01	1.865	40.7	1.51	22.61
	Control	2.1 M	95.0	3.97	1.870	40.8	1.51	22.74
4	Bursaplex	1.2 M	94.4	5.10	2.050	49.0	0.88	18.58
	Control	4.4 M	94.1	5.22	2.085	50.0	0.82	18.79
5	½ Bursaplex ⁴	2.5 M	93.7	5.51	2.124	53.0	1.05	18.93
	Control	3.1 M	93.7	5.46	2.128	53.0	1.06	18.98
6	Bursaplex	1.0 M	96.4	6.26	2.130	54.7	0.88	22.96
	Control	1.1 M	96.2	6.14	2.132	55.2	1.04	23.01
7	Bursaplex	5.6 M	94.3	4.45	1.979	45.8	0.92	18.82
	Control	6.0 M	92.8	4.21	2.019	44.6	1.11	19.56
8	Bursaplex	0.53 M	96.5	4.02	1.913	43.0	0.76	21.71
	Control	0.72 M	95.7	3.96	1.930	43.0	0.69	21.94

¹ Birds were given Bursaplex or a conventional IBD vaccination (control) that consisted of IBD at the hatchery and/or IBD via drinking water/spray at the farm. Bursaplex vaccinated birds were not given a field boost. In trials 6 and 7 the controls did not receive an IBD vaccination.

² FCR = feed conversion ratio

³ SC = standard settlement cost in cents per pound as supplied by the poultry producer, not adjusted for condemnments

⁴ ½ Bursaplex = a ½ dose of Bursaplex.

Table 6 b - Production Values from Controlled Trials using the Live IBD Vaccine Bursaplex™ in Commercial Broiler Chickens.

#	Vacc. ¹ Treat.	# Birds	% Live	Ave. Wt.	FCR ²	Ave Age	% Cond	SC ³
9	Bursaplex	2.7 M	97.2	4.82	1.912	45.6	0.94	20.16
	Control	3.1 M	97.0	4.84	1.924	45.8	0.93	20.26
10	½ Bursaplex ⁴	0.54 M	--- ⁵	5.50	2.16	52.2	1.26	19.32
	Control	0.66 M	---	5.37	2.17	51.5	1.22	19.46
11	Bursaplex	0.20 M	---	5.31	2.13	51.3	1.44	19.22
	Control	0.66 M	---	5.37	2.17	51.5	1.22	19.46
12	Bursaplex	0.68 M	91.5	6.84	2.28	59.0	2.53	20.31
	Control	0.64 M	91.3	6.92	2.32	60.0	1.66	20.43
13	Bursaplex	0.71 M	96.4	3.83	1.98	43.1	1.12	19.86
	Control	0.66 M	96.4	3.88	2.02	43.9	1.34	20.14
14	Bursaplex	14.0 M	95.9	4.65	2.05	47.2	0.93	18.82
	Control	13.9 M	95.7	4.69	2.07	47.4	0.97	18.90
15	Bursaplex	1.60 M	95.1	6.03	2.12	57.0	1.06	18.55
	Control	2.56 M	95.1	6.14	2.12	57.3	0.96	18.54
16	Bursaplex	0.77 M	95.4	4.33	1.98	46.1	1.36	18.51
	Control	1.46 M	95.0	4.28	1.97	45.8	1.17	18.54

¹ Birds were given Bursaplex or a conventional IBD vaccination (control) that consisted of IBD at the hatchery and/or IBD via drinking water/spray at the farm. Bursaplex vaccinated birds were not given a field boost. In Trial 9 the controls did not receive an IBD vaccination.

² FCR = feed conversion ratio

³ SC = standard settlement cost in cents per pound as supplied by the poultry producer, not adjusted for condemnations except for Trials 12 and 13 where SC is adjusted for condemnation.

⁴ ½ Bursaplex = a ½ dose of Bursaplex.

⁵ Data not supplied by the producer.

Specific production values in direct comparisons with vaccination programs can be reviewed separately; however, bottom line differences across all trials (Table 7) completed can be seen as follows:

Reduced Settlement Cost by (US\$) 0.21 cents/pound, or ~ 1 cent/bird
 Lower Feed Conversion by 0.02 (2 points)
 Lower Total Condemnation rate (0.05%)
 Improved Livability (0.35%)
 Increased Live Weight (0.03 pounds/bird)

Table 7 - Summary of Controlled Trial Data from *BursaPlex*™ Trials.

Production Measurement	Mean Change in Production Measure ¹
	(<i>BursaPlex</i> ™ Value Minus Control IBD Vaccine Value)
Percent Livability	0.35% Better
Average Live Weight	0.03 lb. Heavier
Feed Conversion Ratio	0.020 (2 points) Lower
Percent Condemnations	0.05% Lower
Settlement Costs	0.21¢ per lb. Lower

Approximately 43.6 million birds represented in both the *BursaPlex*™ group and the Control IBD vaccine group. *BursaPlex*™ birds had an average age of 0.003 days older than the controls.

¹The improvement was calculated by taking the difference in the production measure (*BursaPlex*™ value minus control value) for each of 16 trials and obtaining a weighted sum of that difference. Each trial was weighted based on the number of *BursaPlex*™ vaccinates.

The reasons for these observed benefits are not completely understood; however, several key factors of application and product profile are evident. The virus-antibody complex vaccine has been shown to stimulate active immunity in the presence of maternal antibody, therefore the bird develops early disease protection. The vaccine virus is broadly antigenic, and stimulates high quality antibody production. The application is uniform and is safe (*in ovo*) for chicks with low maternal antibody levels. One dose gives lifetime protection in broilers, so there is no timing issues of field vaccine application with respect to maternal antibody interference.

Currently, strictly controlled trials are being completed globally comparing the *in ovo* application of the antibody-IBD virus complex vaccine alone with various field applications of other IBD vaccines. Although not available for summary here, to date, the results from these trials are consistent with the findings in the US, with improved feed conversions, better livability, increased live weight, and reduced production costs in the treated groups.

Antibiotics

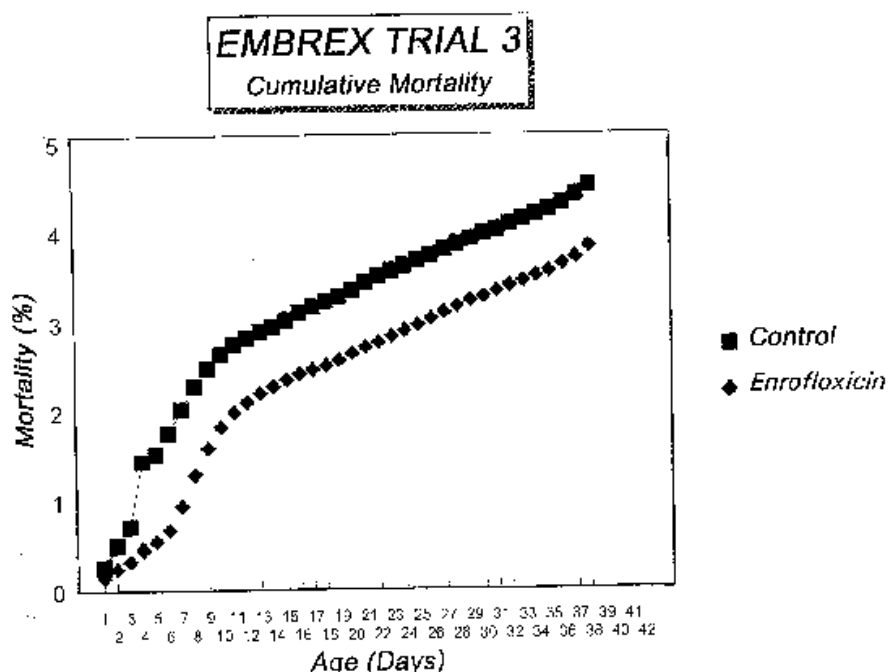
As mentioned previously, Sarafloxacin is currently the only antibiotic licensed by the US Food and Drug Administration for use *in ovo* in the broiler chicken egg. This does not however, limit the actual usage by the US poultry industry to only this antibiotic. Veterinarians may prescribe appropriate antibiotics for use *in ovo*. Currently in the US these include gentamicin, cephalosporin (ceftiofur), and penicillin. These are normally combined with the Marek's diluent at use dilutions prior to the inclusion of the actual Marek's vaccine. The Inovoject® egg injection process does not require antibiotics, however, it does require sterile vaccine. Antibiotics are routinely used during the preparation of Marek's vaccine in the US in order to verify that the process of thawing and mixing the Marek's vaccine ampules with appropriate diluent does not contaminate the bag of vaccine. Aseptic technique is mandatory practice in the preparation for injectables for egg injection.

As global expansion continues, additional companies in the poultry industry have used antibiotic application *in ovo* in order to address certain aspects of disease with general as well as specific bacterial origin. Data presented here include results obtained at two separate hatcheries within the same organization in Korea utilizing the Inovoject® system (Table 8). One hatchery generally being regarded as "cleaner", received setting eggs from company owned breeder farms, while the second hatchery generally being regarded "dirtier", received eggs from both company owned and contracted breeder farms. We can see improvements in hatchability, overall, from both hatcheries during the course of these paired studies. At the "cleaner" hatchery (hatchery A), hatchability of fertile eggs injected was improved just over 1 %, with improvements seen in 4 out of 6 specific tests performed. At hatchery B, the improvements in hatch of fertile exceeded 2 %, with 4 out of 5 trials exhibiting improvements in hatchability. The antibiotic used at both hatcheries was gentamicin at 0.20 mg/egg.

Improvements in field mortality due to specific bacterial disease challenge, also from Korea, as a result of *in ovo* application of cephalosporin (ceftiofur, @ 0.20 mg/egg) are summarized in Table 9. Although not direct comparisons, these data represent a historical summary of chicks from a similar breeder flock placed at different farms. The flock was known to be infected with Salmonella pullorum. Prior to *in ovo* antibiotic therapy, the chicks suffered an average 10 day mortality of over 8%, and at 17 days, the number had risen to over 11.5%. Following *in ovo* application of cephalosporin, early mortality had dropped to just under 3% at 10 days, an improvement of over 5%. Similarly, by 17 days of age, cumulative mortality is just over 4%, an improvement of over 7% from previously grown controls.

Specific antibiotic therapy via the Inovoject® system in the UK included the use of enrofloxacin (Figures 4, 5 and 6). Depicted in the cumulative mortality graphs, paired injection trials completed at a single hatchery resulted in reduced early mortality, which was reflected throughout the life of the broiler chicken. These results clearly depict the importance of a good start at the broiler farms. Mortality experienced within the first 7-10 days separated the two respective groups in each case, and was reflected in lower final mortality in each paired study. The principle organism associated with mortality in each of these trials was *E. coli*.

FIGURE 4



Antibiotics can work effectively *in ovo* by preventing the colonization of the various susceptible areas of the hatching chick, such as the yolk sac and gut, with pathogenic bacterial organisms present in the hatcher environment. The antibiotics will not eliminate these organisms from the hatching environment, however, treatment may reduce the pathogen's entry and subsequent detrimental effects to the hatching chick. Nothing can replace good hygiene at both the breeder and hatchery level in addressing problems of bacterial origin. Application of antibiotics *in ovo* will only work in conjunction with sound practices and programs of sanitation and hygiene at the hatchery and breeder farm.

Conclusions

The application of egg injection technology is not simply a matter of delivering biologically active compounds to the developing embryo. The technique must be sterile, the delivery precise. The details and specific aspects of incubation must be coordinated with the time of egg injection in order to maximize the potential benefits. Each hatchery has specific criteria that must be met in order to maximize the potential benefits from egg injection, while working with a real world situations of people, programs, and costs. With respect to the injectable compounds and vaccines, they must be safe for the embryo, as well as efficacious in establishing a superior immunological response to defend against disease challenge. Furthermore, the injectables cannot interfere with each other's efficacy. Embrex, Inc. has led the field of innovative application of egg injection technology since its inception with the Inovoject® system, and continues to provide unparalleled knowledge, development, and application of this technology on an ongoing basis to the global poultry industry.

FIGURE 5

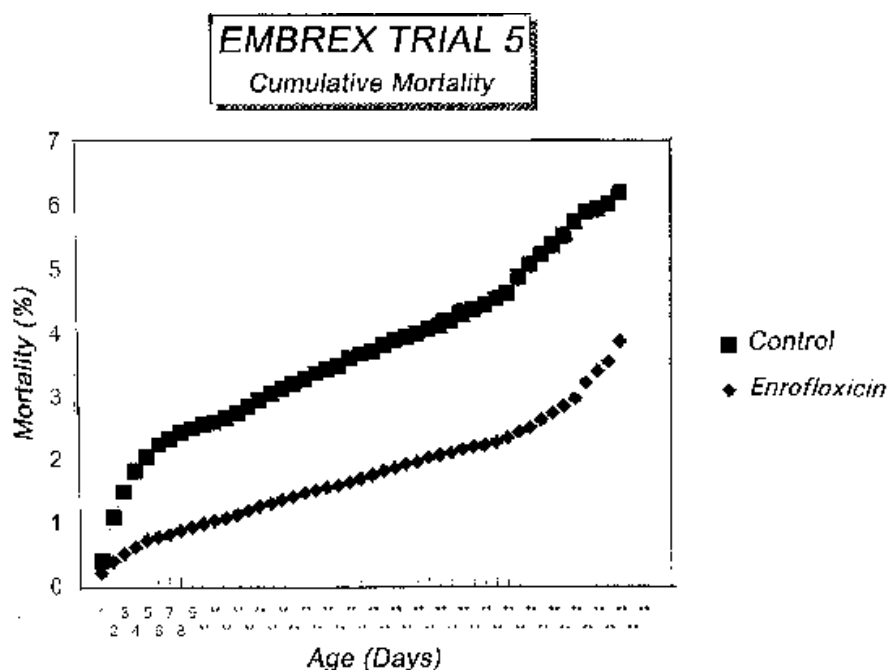
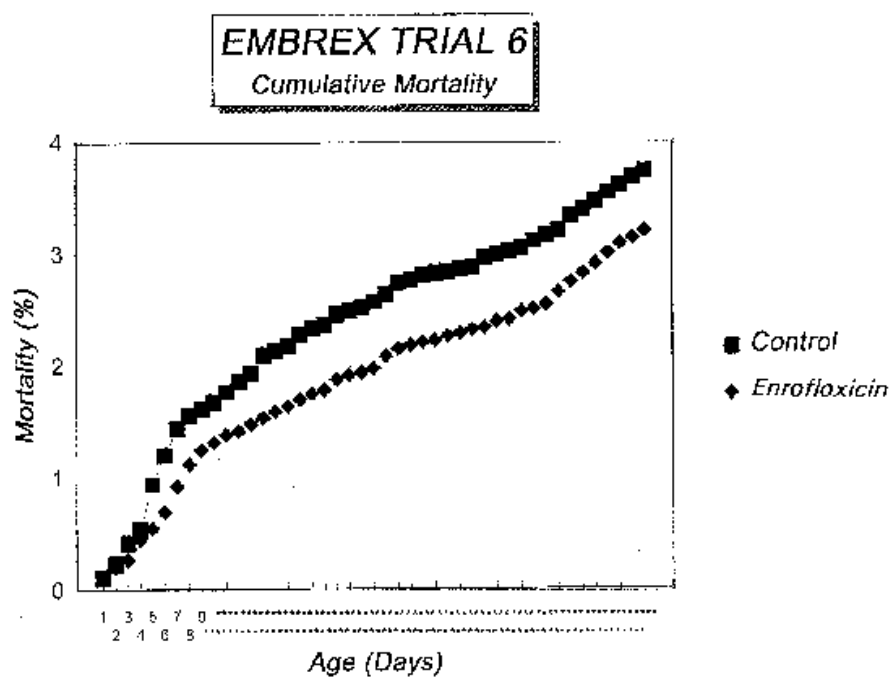


FIGURE 6



VACUNACION IN OVO

Oscar Morales
D.V.M.

*Director de Servicios Técnicos División Internacional
Vineland Laboratories*

La práctica de vacunar las aves contra la enfermedad de Marek en edad embrionaria se ha extendido en la Industria avícola de los Estados Unidos, y comienza a ser utilizado también en varios otros países. Aproximadamente el 70% de los pollitos de un día en los EE.UU. son vacunados "in ovo".

La idea de aplicar las vacunas al embrión cuando aún esta dentro del cascarón no es nueva. Los precedentes históricos que dieron lugar al desarrollo de la técnica de vacunación 'in ovo' pueden seguirse por la evolución de las patentes que han sido solicitadas:

Ano	Solicitante de la Patente	Descripción
1958	Taylor et al.	Introducción de bacteriofagos utilizando presión o inyectándolos dentro del huevo. Objetivo: controlar la contaminación bacteriana.
1964	Godfat et al.	Haciendo perforaciones pequeñas en la cascara para facilitar la penetración de soluciones dentro del huevo
1966	Sandhage et al	Inoculación automática de vacunas en huevos embrionados, por la cavidad alantóica, amniótica o por el saco vitelino.
1977	Miller et al.	Maquina automática para inyectar huevos fértiles antes de la incubación
1984	Sharma et al.	Método de vacunación de huevos embrionados. La inyección debe hacerse dentro del amnios o en el saco vitelino, durante el último cuarto del proceso de incubación. La patente es propiedad del USDA

La aplicación práctica del método de vacunación in ovo se vio impulsada entonces por el desarrollo de una máquina con capacidad de inyectar en grandes cantidades de embriones sin afectar los parámetros productivos de la planta de incubación.

La aceptación y adopción de la vacunación in ovo por parte de la industria avícola de los Estados Unidos fue un proceso de varios años. La actitud de la industria ha ido acompañando las mejoras en el diseño y operación de las maquinas de vacunación y la automatización de casi todas las tareas de la planta de incubación. La evolución de la actitud de la industria puede verse en los siguientes extractos de las memorias de la Conferencia Anual de Salud y Procesamiento Aviar (Condemnation Meeting).

1992	“La posibilidad de administrar las vacunas contra la enfermedad de Marek a los embriones, una técnica diseñada para acelerar la inmunidad y reducir el costo de mano de obra, todavía espera confirmación por parte de la industria. Sin embargo se continúan desarrollando los equipos de inoculación automática y estos podrían proveer la seguridad y confiabilidad necesarios para garantizar su uso comercial.” (Witter R.L. USDA).
1993	“Puede existir alguna aprehensión, sin embargo, es necesario continuar el desarrollo de pruebas pareadas. Los niveles de higiene de las plantas de incubación deben mejorarse, deben ajustarse los tiempos de carga de las incubadoras, y vigilar muy bien la mortalidad durante la primera semana. (Wills, F. Gerente de Operaciones de Incubación. Allen’s Hatchery Inc.)
1994	“La vacuna de Marek es administrada por vía subcutánea y por aplicación in ovo a los pollitos de Delmarva. No se ha observado ni ventaja ni desventaja al comparar la vacunación subcutánea con la vacunación in ovo.” (Ritter, D. Showell Farms Inc.)
1995	“El principal beneficio obtenido de implementar la vacunación in ovo ha sido la reducción en el costo de mano de obra. Adicionalmente ayudado a acelerar la modernización de los equipos y de la operación de las plantas incubadoras”(panel de expertos)
1996	No se hizo mención especial al tema. Parece que la adopción y aceptación del sistema por gran parte de la industria avícola de los Estados Unidos le quito importancia de discusión a este tema.

Los usuarios del sistema coinciden en afirmar que hay dos grandes razones para justificar la adopción del sistema:

1.- Reducción del número de operarios en la planta de incubación. Este punto que pareciera estar directamente relacionado con el costo de la mano de obra, tiene también características socioeconómicas particulares de cada región. Algunos gerentes de planta de incubación sostienen que no existe un ahorro en el valor de los salarios de los operarios vs. el costo de operar la maquina, pero que aún así, la reducción de los problemas administrativos y la eficiencia de manejo del tiempo hacen el trabajo más fácil y eficaz. La adopción de la vacunación in ovo es definitivamente valiosa en zonas en donde la mano de obra para vacunación es cara, escasa y de calidad no confiable.

2.- Acelera la automatización y la operación efectiva de una planta de incubación moderna. Plantas de incubación que requieren movilizar 50.000 o más pollitos por hora operan con mayor eficiencia al adoptar la vacunación in ovo.

Modificaciones en la incubadora

La transición de un sistema de vacunación subcutáneo a in ovo requiere ajustes en la operación:

- Los niveles de sanidad en la planta de incubación deben ser extremos. Los parámetros de contaminación bacteriana o de hongos para la adopción de la vacunación in ovo deben restringirse.

- Probablemente la mayor presión por mejorar en la calidad va a sentirse en la granja misma de reproductoras. (calidad microbiológica, desinfección de los huevos y de los carros de transporte, buena posición de los huevos en la bandeja).
- Los tiempos de carga y descarga de las máquinas incubadoras deberán ajustarse para cumplir con el flujo de huevos requeridos por el sistema, tanto en tiempo como en cantidad.
- Aunque el número de personas en a planta de incubación se ver reducido, el nivel de entrenamiento y capacidad de resolver problemas deberá ser incrementado.
- La localización y operación de la máquina de vacunación está en la sala de nacimiento mejor que en el cuarto de incubadoras. El diseño de nuevos edificios debería contemplar una sala intermedia dedicada a la operación de transferencia e incubación.
- Cualquier problema de manejo de las condiciones de incubación, especialmente de humedad, afectará la viabilidad de los embriones durante la inyección in ovo.
- Es recomendable tener uniformidad en el tipo de equipo de la incubadora.
- En todos los casos los gerentes de las incubadoras reportan una perdida leve en el nacimiento. En aquellos casos en que se revisa la mortalidad embrionaria, se reporta una perdida entre 0.2 y 0.3% por trauma del embrión durante la inyección. La mayoría son debidos a mala posición del embrión o del huevo al momento de la inyección.
- Existen diferencias y ajustes que deben hacerse por estirpe y por edad de las aves
- Como regla general deberán procesarse primero los huevos provenientes de madres jóvenes, y de ultimo los de mayor edad o que se sepa que tienen menor calidad microbiológica.

La inmunidad y proteccion en los pollitos

Aunque las pruebas de laboratorio, o pruebas de campo en pequeña escala, han indicado que la protección de la vacunación in ovo contra la enfermedad de Marek es levemente mejor, en la práctica, y luego de varios millones de aves vacunadas, la industria avícola de EE.UU. no ha observado diferencia notable, ni a favor ni en contra, cuando se compara con la vacunación subcutánea.

Algunos cuestionamientos?

Hasta el momento la vacunación in ovo ha sido utilizada principalmente para la vacunación de Marek. La industria misma ha puesto una gran presión sobre el sistema al adoptar el uso de los serotipos 2 y 3 (SB1 y Rispons), incluso antes de que estas hubieran sido probadas y aprobadas para su utilización in ovo.

Se han planteado algunas desventajas y riesgos. El Dr. Rosemberger, de la Universidad de Delaware ha indicado que en el caso utilizar la cepa SB1 in ovo, se obtiene un efecto contrario, y que la viremia e inmunidad se retrasan en comparación con la vacunación subcutánea.

S. Cloud et al. Han reportado que la vacunación in ovo afecta negativamente la capacidad de las aves para manejar la reacción respiratoria contra la bronquitis infecciosa.

La posibilidad de transportar contaminación de un huevo a otro por medio de las agujas es real. Por eso es necesario optimizar las medidas de desinfección. Los huevos que tengan crecimiento bacteriano interior son los que representan mayor riesgo.

La posibilidad de transmisión de enfermedades específicas ha sido indicada, pero no investigada a fondo. Por ejemplo: los embriones provenientes de madres infectadas con virus de leucosis contienen grandes cantidades de virus en los líquidos embrionarios, que pueden ser transmitidos por la aguja a los embriones subsiguientes.

Desarrollo futuros de vacunas

Existe investigación permanente por el uso potencial del sistema para inyectar otras vacunas u otro tipo de medicaciones: (antibióticos, inmunoglobulinas, inmunomoduladores)

En la gran mayoría de los casos las vacunas que actualmente utilizamos en las granjas deberán ser modificadas y probadas antes de poder ser adoptadas para utilización in ovo. Existe un permanente flujo de investigaciones al respecto. Algunas de estas aproximaciones son:

- El uso de vacuna inactivada (Newcastle).
- Mayor atenuación de los virus (Newcastle, bronquitis).
- Combinaciones de virus ligado a inmunoglobulinas (Gumboro).
- Uso de virus recombinantes, especialmente de virus de Marek que expresen antígenos de otros virus.

Algunas empresas avícolas han utilizado el sistema para inocular simultáneamente antibióticos y vacunas de Gumboro y de viruela. Algunas complicaciones fueron observadas en el caso de viruela.

Algunos experimentos han sido accidentales, tales como la inoculación masiva de embriones con virus de Newcastle y bronquitis infecciosa resultando en una gran mortalidad de los embriones inyectados.

Resumen: La industria de pollo de engorde de EE.UU. ha adoptado en su gran mayoría el sistema de vacunación in ovo para la aplicación de la vacuna de Marek. Existen todavía compañías que continúan con la vacunación subcutánea, y compañías que utilizan los dos sistemas simultáneamente.

La decisión de uso del sistema y sus ventajas no están relacionadas con una efectividad mayor de la vacunación misma. Están en la velocidad de operación y la reducción del número de operarios en la planta de incubación.



Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves
Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Caixa Postal 21, 89.700-000, Concórdia, SC
Telefone: (049) 4428555 Fax(049) 4428559
cnpsa@cnpsa.embrapa.br



Av. Osmar Cunha, 183
Edifício Celsa Center, bloco A
Sala 815 - Centro
88.015-100- Florianópolis-SC.

Ministério da
Agricultura e do
Abastecimento